

Kode>Nama Rumpun Ilmu\*: 376/Ilmu Biomedik

## **LAPORAN TAHUNAN/AKHIR PENELITIAN DOSEN PEMULA**



### **PENGARUH LATIHAN FISIK TERHADAP TINGKAT KERUSAKAN GLOMERULUS GINJAL TIKUS JANTAN GALUR *SPRAGUE DAWLEY* DIABETES**

**Kajian Terhadap Ekspresi Reseptor *Advanced Glycation End-products* Dan  
Diameter Glomerulus**

**Tahun ke 1 dari rencana 1 tahun**

#### **TIM PENGUSUL**

**Diyah Candra Anita K, S. Kep., Ns., MSc. (NIDN: 0504098201)**  
**Lutfi Nurdian Asnindari, S. Kep., Ns., MSc. (NIDN: 0523028001)**

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN 'AISYIAH YOGYAKARTA  
Desember 2013**

#### HALAMAN PENGESAHAN

**Judul Kegiatan** : Pengaruh Latihan Fisik Terhadap Tingkat Kerusakan Glomerulus Ginjal Tikus Jantan Galur Sprague Dawley Diabetes. Kajian Terhadap Ekspresi Reseptor Advanced Glycation End-products Dan Diameter Glomerulus

**Peneliti / Pelaksana**  
Nama Lengkap : DIYAH CANDRA ANITA K S.Kep.,Ns  
NIDN : 0504098201  
Jabatan Fungsional :  
Program Studi : Profesi Ners  
Nomor HP : 0818294575  
Surel (e-mail) : diyah.candra@yahoo.com

**Anggota Peneliti (1)**  
Nama Lengkap : LUTFI NURDIAN ASNINDARI M.Sc  
NIDN : 0523028001  
Perguruan Tinggi : SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN AISYIYAH

**Institusi Mitra (jika ada)**  
Nama Institusi Mitra :  
Alamat :  
Penanggung Jawab :  
**Tahun Pelaksanaan** : Tahun ke 1 dari rencana 1 tahun  
**Biaya Tahun Berjalan** : Rp. 12.000.000,00  
**Biaya Keseluruhan** : Rp. 15.000.000,00


Mengetahui  
Ketua Prodi

  
(Ery Khusnal, M.Ns)  
NIP/NIK 0513057302/9804029

Yogyakarta, 23 - 12 - 2013,  
Ketua Peneliti,

  
(DIYAH CANDRA ANITA K S.Kep.,Ns)  
NIP/NIK0606069

Menyetujui,  
Kepala LP3M

  
(Marnu'ah, S.Kep., Ns., M.Kep., Sp.Kep.J)  
NIP/NIK 0501237301/9706027

## RINGKASAN

Diabetes mellitus (DM) adalah kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia, yang disebabkan oleh abnormalitas sekresi insulin seperti resistansi insulin, metabolisme insulin atau keduanya.. Latihan fisik yang dilakukan secara teratur dan terukur mampu meningkatkan penggunaan glukosa otot sehingga menurunkan kondisi hiperglikemia dan mencegah komplikasi DM. Kerusakan ginjal pada diabetes secara histologis ditandai dengan peningkatan reseptor *advanced glycation end-products* dan hipertrofi glomerulus.

Tujuan dalam penelitian ini adalah mengevaluasi manfaat latihan fisik dalam mencegah komplikasi pada ginjal akibat hiperglikemia, seperti kadar gula darah puasa, ekspresi RAGE dan diameter pada glomerulus ginjal.

Penelitian ini merupakan eksperimen murni dengan rancangan *post test only group design*. Subjek penelitian adalah 10 ekor tikus jantan galur *Sprague dawley*, yang diinduksi streptozotocin (STZ) dosis 35 mg/kgBB. Subjek dibagi menjadi dua kelompok yaitu, kelompok STZ dan kelompok STZ dengan latihan fisik. Latihan fisik diberikan selama 9 minggu dengan menggunakan treadmill, frekuensi 5x/minggu, intensitas moderat, kemiringan 0°, kecepatan dan durasi ditingkatkan secara bertahap. Analisis hasilnya menggunakan *independent t-test*.

Hasil penelitian didapatkan bahwa latihan fisik teratur dan terukur mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa ( $p=0,048$ ); ekspresi RAGE di glomerulus ( $p=0,003$ ) namun belum berpengaruh pada diameter glomerulus ginjal ( $p=0,106$ ).

## **PRAKATA**

Puji syukur penulis haturkan kehadirat Allah SWT atas karunia dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan akhir penelitian dengan judul: ***“Pengaruh Latihan Fisik Terhadap Tingkat Kerusakan Glomerulus Ginjal Tikus Jantan Galur Sprague Dawley Diabetes. Kajian Terhadap Ekspresi Reseptor Advanced Glycation End-products Dan Diameter Glomerulus.”***

Laporan ini disusun dalam rangka menyelesaikan pertanggungjawaban hibah penelitian Dosen Pemula Dikti TA 2013. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis menghaturkan banyak terima kasih kepada:

1. Ketua STIKES ‘Aisyiyah Yogyakarta, atas kesempatan yang diberikan untuk menyelesaikan laporan akhir penelitian dosen.
2. Ketua Program Studi Ilmu Keperawatan STIKES ‘Aisyiyah Yogyakarta, atas kesempatan dan dukungannya untuk menyelesaikan laporan akhir penelitian dosen.
3. Ketua LP3M STIKES ‘Aisyiyah Yogyakarta, atas kesempatan yang diberikan untuk menyelesaikan laporan akhir penelitian hibah grant.
4. Mami tercinta, Bapak/Ibu mertua, kakak-kakak beserta keluarga kecilnya, atas doa dan dukungannya.
5. Suami dan anak-anakku tersayang (Fattah dan Fathiyyah), yang telah memberikan doa, kasih, cinta dan dukungannya.
6. Seluruh pihak yang tak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang secara langsung atau tidak langsung turut membantu tersusunnya laporan akhir penelitian ini.

Akhirnya, semoga Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan Bapak/Ibu/Saudara, dan menjadikan laporan akhir penelitian ini bermanfaat.

Yogyakarta, 25 Desember 2013

Diyah Candra Anita K.

## **DAFTAR ISI**

HALAMAN JUDUL .....	1
HALAMAN PENGESAHAN .....	2
RINGKASAN.....	3
KATA PENGANTAR .....	4
DAFTAR ISI .....	5
DAFTAR LAMPIRAN.....	6
BAB 1. PENDAHULUAN .....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	13
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	14
BAB 5. HASIL YANG DICAPAI .....	16
BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA .....	17
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN .....	28
DAFTAR PUSTAKA .....	29
LAMPIRAN 1. INSTRUMEN .....	34
LAMPIRAN 2. PERSONALIA TENAGA PENELITIAN BESERTA KUALIFIKASINYA.....	39
LAMPIRAN 3. NASKAH PUBLIKASI (Submitted).....	46

## BAB 1. PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) adalah kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia. Secara umum DM terdiri dari empat jenis, yaitu tipe 1, tipe 2, DM tipe spesifik dan DM tipe gestasional (Sherwood, 2011). Diabetes mellitus merupakan masalah kesehatan global yang mempengaruhi semua usia, baik anak-anak maupun lansia (Cade, 2008). Penderita DM di Indonesia pada tahun 2030 akan mengalami peningkatan menjadi 21,3 juta. Jumlah tersebut meningkat 2,5 kali lipat dari jumlah penderita pada tahun 2000 (Wild *et al.*, 2004).

Hiperglikemia kronik pada DM dapat menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas khususnya seperti *reactive oxygen species* (ROS) melalui mekanisme peningkatan jalur poliol, peningkatan *advanced glycation end-product* (AGEs), aktivasi protein kinase C (PKC) dan peningkatan jalur heksosamin. Produksi berlebihan dari *reactive oxygen species* (ROS) dapat menyebabkan kerusakan dari makromolekul seluler seperti DNA, lipid, protein dan molekul antioksidan yang akhirnya menyebabkan apoptosis dan kerusakan berbagai organ (Perkasa *et al.*, 2010).

*Advanced glycation end products* dibentuk melalui reaksi glikasi non enzymatic antara glukosa dan asam amino (Hudson *et al.*, 2002). *Advanced glycation end products* akan menghasilkan berbagai efek merugikan melalui berbagai mekanisme. Pertama, pembentukan AGEs yang terjadi pada matriks ekstraseluler akan menyebabkan terjadinya ekspansi matriks dan selanjutnya akan menyempitkan lumen pembuluh darah. Kedua, pembentukan AGEs yang terjadi pada intraseluler akan menginduksi stres oksidatif dan meningkatkan produksi anion superoksid pada mitokondria. Ketiga, AGEs yang berinteraksi dengan reseptornya (RAGE) akan mengaktifasi cascade proinflamasi, protrombosis (Hudson *et al.*, 2002) dan profibrosis (Bohlender *et al.*, 2005).

Ginjal merupakan organ utama pembuangan akhir produk AGEs. Jumlah AGEs yang meningkat dalam plasma dapat menginduksi perubahan patologik pada

ginjal yang ditandai dengan perubahan yang khas pada korpuskulum malphigi renalis. Perubahan histologi pada korpuskulum malphigi berupa hipertrofi glomerulus, glomerulosklerosis, proliferasi sel mesangial, ekspansi matrik mesangial, mesangiolisis, penebalan kapsula Bowman dan hialinosis arteriolar (Perkasa *et al.*, 2010). *Advanced glycation end products* yang berikatan dengan reseptornya akan menyebabkan transformasi sel tubular menjadi miofibroblas, sehingga tubulus akan menjadi hipertrofi (Uribarri & Tuttle, 2006). Interaksi antara RAGE dengan glikasi albumin akan mengurangi ekspresi nephrin, sehingga mengganggu fungsi normal podosit pada daerah glomerular. Secara umum, akumulasi AGEs akan mempercepat terjadinya nefropati diabetik (Setiawan & Suhartono, 2005).

Salah satu upaya untuk mengontrol kadar gula darah adalah latihan fisik yang teratur. Latihan fisik yang teratur dapat meningkatkan homeostasis glukosa, mengurangi rasio glukosa/insulin, dan meningkatkan sensitivitas insulin (Angelis *et al.*, 2000). Otot yang aktif bergerak tidak memerlukan insulin untuk memasukan glukosa kedalam sel, selain itu latihan fisik akan menyebabkan ambilan glukosa meningkat 7-20 kali lipat (Indriyani *et al.*, 2007). Jumlah permintaan energi yang lebih tinggi tersebut akan mengurangi reaksi glikasi yang terjadi, sehingga dapat menurunkan jumlah AGEs di plasma maupun jaringan (Boor *et al.*, 2009).

Latihan fisik yang teratur diduga mampu menurunkan kadar AGE di plasma maupun jaringan dan perubahan histopatologik korpuskulum malphigi. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini, penulis ingin meneliti tentang efek latihan fisik pada tikus *Sprague Dawley* jantan yang diinduksi streptozotocin (STZ) terhadap ekspresi reseptor *advanced glycation end-products* (RAGE) di glomerulus dan diameter glomerulus.

## **BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Diabetes Mellitus (DM)**

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) sebagai akibat dari defek sekresi insulin, kerja insulin ataupun keduanya. Diabetes menurut ADA diklasifikasikan menjadi 4 kelas, yaitu : DM tipe-1, DM tipe-2, DM tipe spesifik dan DM gestasional (ADA, 2011).

Diabetes mellitus tipe-2 merupakan penyakit yang paling sering terjadi, yaitu sekitar 80% dari seluruh kasus diabetes (Braun *et al.*, 1995; Sherwood, 2011). Diabetes mellitus tipe-2 dengan pengendalian kadar glukosa darah yang rendah, pada akhirnya akan menyebabkan gangguan sel  $\beta$  pankreas, seperti penurunan massa dan fungsi sel  $\beta$  pankreas (Ma, Zhao & Turk, 2011).

Genetik dan faktor lain juga dapat menyebabkan kerusakan sel islet pada diabetes tipe-2. Faktor-faktor lain tersebut antara lain adalah glukotoksisitas, lipotoksisitas, perubahan proses *islet amyloid polypeptide* (IAPP), *advanced glycation end-products* (AGEs) dan peningkatan sitokin inflamasi. Keseluruhan faktor tersebut akan menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS), yang mengakibatkan stres metabolik yang akhirnya merusak sel  $\beta$  pankreas (DeFronzo, 2004).

Induksi streptozotocin (STZ) adalah salah satu cara dalam membuat hewan model diabetes mellitus. Streptozotocin merupakan salah satu antibiotik dari grup nitrosuria. Pemberian STZ dilakukan dengan cara induksi intraperitoneal pada tikus maupun mencit. Mekanisme kerja dari STZ dalam membuat hewan model diabetes adalah dengan merusak sel  $\beta$  pankreas (Sobrevilla *et al.*, 2011).

Pemberian STZ dosis 100-150 mg/kgBB dapat menyebabkan DM tipe-1, dikarenakan pemberian dengan dosis tersebut akan mengakibatkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas secara absolut. Pemberian STZ dengan dosis 35-60 mg/kgBB dapat menyebabkan DM tipe-2, dikarenakan pemberian dengan dosis tersebut akan terjadi degenerasi reversibel pada sel  $\beta$  pankreas (Akbarzadeh *et al.*, 2007).



Ada dua cara yang menyebabkan hambatan sintesis insulin dan peningkatan kadar glukosa darah akibat induksi STZ. Pertama, dengan mengurangi glukosa yang masuk ke jaringan perifer, otot dan jaringan adiposa. Kedua, meningkatkan pemecahan glikogen serta glukoneogenesis dan produksi glukosa intrahepatik (Amin, Awad & Nagy, 2011).

Abeeleh *et al.* (2009) menyebutkan bahwa degenerasi sel  $\beta$  pankreas terjadi dalam 2-4 hari setelah induksi STZ. Kadar glukosa darah akan mencapai titik tertinggi pada hari ke-3 post induksi STZ. Pemeriksaan kadar glukosa akan lebih valid jika menggunakan kadar glukosa puasa yaitu dengan cara tikus dipuasakan sekitar 7-8 jam sebelum diambil darahnya.

## **2.2. AGEs (*Advanced Glycation End Products*) dan Reseptornya**

Pada keadaan hiperglikemia, produksi berbagai gula pereduksi (glukosa, glukosa-6-fosfat, dan fruktosa) akan meningkat melalui proses glikolisis dan jalur poliol. Glukosa sebagai gula pereduksi dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Sifat toksik tersebut disebabkan oleh kemampuan kimiawi gugus karbonil aldehid yang dimilikinya (Rahbani *et al.*, 1999). Aldehid merupakan senyawa yang mampu berikatan secara kovalen sehingga terjadi modifikasi protein. Modifikasi tersebut dapat terjadi dalam tubuh melalui berbagai mekanisme enzimatik dan nonenzimatik.

Akumulasi AGEs di berbagai jaringan merupakan sumber utama radikal bebas sehingga mampu berperan dalam peningkatan stres oksidatif serta terkait dengan patogenesis komplikasi diabetes. *Advanced glycation end products* akan menurunkan aktivitas superoksida dismutase (SOD), glutathion, penyimpanan glutathion, dan aktivasi protein kinase C. Pada diabetes, akumulasi AGEs secara umum mempercepat terjadinya aterosklerosis, nefropati, neuropati, retinopati, serta katarak (Ueno *et al.*, 2002).

*Receptor of Advanced Glycation End-product* digambarkan sebagai reseptor AGEs (Nuttal *et al.*, 1999). Definisi ini diambil berdasarkan kemampuan  $^{125}\text{I}$ -AGE albumin untuk berikatan dengan RAGE dalam tabung plastik, atau RAGE

yang diekspresikan di sel endothelial dengan kD ~50nM (Schmidt *et al.*, 1992 *cit.* Ramasamy *et al.*, 2005).

Berbagai penelitian menyebutkan bahwa interaksi seluler antara AGE dan RAGE akan menginduksi berbagai macam komplikasi. Ikatan AGE-RAGE di makrofag akan menyebabkan pelepasan sitokin seperti IL-1, IGF-1 dan *tumor necrosis factor α* (TNF-α). Pengeluaran zat-zat tersebut akan memacu proliferasi sel mesangial glomeruli, sel otot polos arteri dan sintesis kolagen tipe IV glomeruli. Pada sel endotel, ikatan AGE-RAGE akan menyebabkan perubahan kearah koagulasi di antaranya penurunan aktivitas trombomodulin dan peningkatan faktor koagulasi IX, X serta meningkatkan produksi vasokonstriktor endotelin-1. Hal inilah yang mengakibatkan mudah terjadi vasokonstriksi dan trombus (Brownlee, 1997). Selain itu, interaksi AGE-RAGE juga akan meningkatkan ROS, melalui aktivasi NADPH oksidasi (Yan *et al.*, 1994 *cit.* Ramasamy *et al.*, 2005). Ikatan antara AGE-RAGE di endothel pun dapat mengaktivasi faktor transkripsi NFκB, sebagai respon terhadap stress oksidatif intraseluler (Brownlee, 1997).

Tanji *et al.* (2000) *cit.* Ramasamy *et al.* (2005), mengemukakan bahwa peningkatan ekspresi RAGE pada diabetes berhubungan dengan peningkatan glikosilasi hemoglobin. *Glycosylated hemoglobin species*, merupakan prekursor dari AGEs atau ligan dari RAGE. Ekspresi RAGE akan meningkat pada ginjal manusia yang menderita diabetes, utamanya dalam podosit (sel epitel glomerulus) dan endothel, sedangkan pada mesangium maupun tubulus, RAGE tidak terekspresi dengan jelas. Studi yang dilakukan oleh Wendt *et al.* (2003) *cit.* Ramasamy *et al.* (2005), menunjukkan bahwa blokade pada RAGE akan mencegah glomerulosklerosis yang merupakan salah satu tanda keparahan dari nefropati diabetik.

### **2.3.Komplikasi Diabetes Pada Ginjal**

Hiperglikemia akan memicu terjadinya kerusakan ginjal, sehingga menimbulkan perubahan hemodinamik, perubahan metabolisme, disfungsi endothel, aktivasi sel inflamasi, dan perubahan ekspresi factor vascular. Hiperglikemi melatarbelakangi

individu dalam perkembangan mikroangiopati diabetes nefropati. Perubahan menjadi diabetes nefropati ini akan menimbulkan gangguan dinding pembuluh darah, dengan demikian mengganggu *remodelling*, dan ditandai dengan berubahnya sel matriks dari organ sasaran (Wendt *et al.*, 2003).

Gangguan awal pada jaringan ginjal sebagai dasar terjadinya nefropati adalah terjadinya proses hiperfiltrasi-hiperfusi membran basal glomeruli. Gambaran histologi jaringan pada diabetes nefropati memperlihatkan adanya penebalan membran basal glomerulus, ekspansi mesangial glomerulus yang akhirnya menyebabkan glomerulosklerosis, hyalinosis arteri eferen serta fibrosis tubulo interstitial. Tampaknya berbagai faktor berperan dalam terjadinya kelainan tersebut. Peningkatan glukosa yang menahun (glukotoksisitas) pada penderita yang mempunyai predisposisi genetik merupakan faktor-faktor utama ditambah faktor lainnya dapat menimbulkan nefropati (Ritz & Orth, 1999).

#### **2.4.Latihan Fisik Terukur dan Teratur**

Latihan fisik terukur dan teratur merupakan penggunaan energi dengan kontraksi otot skelet guna menghasilkan pergerakan tubuh, yang dilakukan secara terencana, terstruktur, serta bertujuan untuk meningkatkan dan mempertahankan kebugaran tubuh (Yardley *et al.*, 2010). Menurut *American Diabetes Association* (ADA 2011), latihan fisik merupakan bagian dari pengelolaan diabetes tipe-2 selain diet dan obat-obatan. Latihan fisik yang teratur dan terukur dapat memperbaiki kadar glukosa darah, mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, mengurangi berat badan dan meningkatkan kesehatan.

Proses perbaikan kontrol glukosa melalui latihan fisik dapat terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu stimulasi transport glukosa ke otot, peningkatan aksi insulin pada sel-sel organ yang terlibat dalam latihan fisik, dan regulasi positif yang dirangsang oleh insulin sebagai efek dari latihan fisik yang teratur. Latihan fisik telah diindikasikan sebagai kegiatan yang menyerupai insulin. Hal ini disebabkan karena adanya peningkatan kapasitas otot untuk menangkap glukosa plasma karena penurunan cadangan lemak intramuskular (Lemos *et al.*, 2011). Roberts *et al.* (1997) menemukan bahwa glukosa transporter GLUT-4 meningkat setelah

latihan fisik teratur pada penderita diabetes (22%) dan nondiabetes (38%). Peningkatan kapasitas otot untuk mengoksidasi lemak sebagai respon latihan fisik aerobik merupakan mekanisme utama yang meningkatkan sensitivitas insulin dalam otot. Boor *et al.* (2009) menyampaikan hal senada dalam penelitiannya yaitu, latihan fisik teratur akan menginduksi permintaan energi yang lebih tinggi, sehingga mengurangi produk simpanan glikasi.

Latihan fisik yang teratur akan berakibat terjadinya adaptasi kardiovaskular berupa penurunan tekanan darah, agregasi dan pelekatan trombosit, serta peningkatan aliran darah ke jantung. Adaptasi ini dimediasi oleh produksi nitrit oksida (NO). Peningkatan produksi NO selama latihan, mampu menginduksi adaptasi perlindungan melalui interaksi berbagai faktor transkripsi sehingga mempengaruhi ekspresi gen enzim antioksidan (Atalay & Laaksonen, 2002).

Penelitian yang dilakukan oleh Boor *et al.* (2009) menunjukkan bahwa latihan fisik yang teratur dapat menurunkan ekspansi mesangial dan glomerulosklerosis pada tikus obesitas yang diabetik. Tidak ada aktivasi sel mesangial di glomerulus yang terekspresi, baik sebagai  $\alpha$ -SMA atau kolagen tipe-1. Kurdak *et al.* (2010) mengemukakan bahwa, latihan fisik aerobik yang teratur dengan intensitas sub maksimal dapat mencegah perkembangan diabetes nefropati. Efek renoprotective dari latihan fisik aerobik dapat berhubungan dengan efek regulasi terhadap hiperglikemia.

*United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS, 2000), menunjukkan bahwa kontrol glikemik yang ketat dapat mengurangi risiko mikroalbuminemia secara signifikan. Latihan fisik teratur selama 8 minggu dapat menurunkan reaksi dengan asam thiobarbituric di ginjal saat istirahat (Kurdak *et al.*, 2010).

Intensitas dan durasi latihan fisik merupakan faktor penting bagi ginjal dalam merespon kegiatan tersebut. Touchberry *et al.* (2004) mengemukakan bahwa latihan fisik pada manusia dengan durasi dan intensitas yang berbeda akan menunjukkan kadar proteinuria yang berbeda.

### BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan umum dalam penelitian ini adalah untuk mengevaluasi manfaat latihan fisik dalam mencegah komplikasi pada ginjal akibat hiperglikemia. Tujuan khusus dalam penelitian ini adalah untuk mengevaluasi:

1. Perbedaan ekspresi RAGE di glomerulus tikus jantan yang diinduksi STZ serta diberi latihan fisik dengan ekspresi RAGE di glomerulus tikus jantan yang diinduksi STZ saja.
2. Perbedaan diameter glomerulus tikus jantan yang diinduksi STZ serta diberi latihan fisik dengan diameter glomerulus tikus jantan yang diinduksi STZ saja.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membuktikan secara ilmiah tentang efek latihan fisik yang teratur dapat mencegah komplikasi akibat hiperglikemia kronis. Berdasarkan hal tersebut, latihan fisik yang teratur dapat dijadikan *habitual life style* untuk mencegah komplikasi lebih lanjut.

### BAB 4. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan coba berupa tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*. Sampel didapat dari 15 ekor tikus jantan galur SD, usia 11-12 minggu dengan berat badan 200-250 gram. Pemilihan kelompok dilakukan dengan acak dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, ditentukan sesuai rumus hitung sampel dari Snedecor dan Cochran *cit. Dell et al (2002) cit. Asnawati (2010)* yaitu  $n = 1 + 2C \left( \frac{s}{d} \right)^2$ , dengan s adalah standar deviasi, d adalah perbedaan yang terdeteksi, dan C adalah konstanta yang bergantung pada nilai  $\alpha$  (tingkat signifikansi) dan  $\beta$  (1-power). C ditentukan dari tabel, untuk  $\alpha$  0,05 dan  $1 - \beta$  0,8 nilai C adalah 7,85 sehingga 2C adalah 15,70. Berdasarkan penelitian terdahulu didapatkan  $s=9,02$  dan  $d=17,75$  (Agustiningsih, 2006 *cit. Asnawati, 2010*), maka jumlah sampel minimal yang diperlukan untuk penelitian ini adalah 5 ekor tikus perkelompok.

Hewan coba dipilih secara acak sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan. Hewan coba diundi untuk mendapatkan nomor urut kemudian dikelompokkan

dalam 2 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor hewan coba, yaitu:

1. Kelompok 1, merupakan kelompok kontrol yang diinduksi STZ dan tidak mendapat perlakuan latihan terukur dan teratur.
2. Kelompok 2, merupakan kelompok perlakuan yang diinduksi STZ dan mendapat perlakuan latihan terukur dan teratur.

Pengelompokkan hewan coba dilakukan setelah induksi STZ 35 mg/kgBB dan pemeriksaan kadar glukosa plasma yang menunjukkan hasil >200 mg/dl. Sebelumnya, hewan coba diaklimatisasi lebih dahulu selama satu minggu untuk mendapatkan keseragaman kondisi sebelum dilakukan perlakuan.

#### **4.1. Perlakuan pemberian streptozotocin**

Pemberian streptozotocin (STZ) pada hewan coba dilakukan pada hari ke-7. Hal ini bertujuan supaya terjadi kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas, yang berakibat terciptanya kondisi hiperglikemia. Induksi STZ dilakukan secara intraperitoneal, dengan dosis 35 mg/kgBB dalam 0,1 M citrate buffer dengan pH 4,5. Kondisi diabetes, ditunjukkan dengan kadar glukosa plasma >200 mg/dl atau glukosa puasa >140 mg/dl disertai dengan adanya penurunan berat badan.

#### **4.2. Perlakuan latihan terukur dan teratur**

Program latihan terukur dan teratur diadopsi dari penelitian yang dilakukan oleh Souza *et al.* (2007). Program latihan terukur dan teratur dilakukan 5 hari/minggu selama 9 minggu dengan treadmill.

Perlakuan latihan fisik ini mengacu pada protokol penelitian Souza *et al.*, 2007 dengan intensitas menengah ringan (*low moderat*) dan VO<sub>2</sub> max setara 50-70% sampai dengan kecepatan maksimal yaitu 20 m/menit tanpa inklinasi. Latihan fisik diawali dengan pemanasan dan pendinginan masing-masing 10 menit.

#### **4.3. Pengambilan sampel dan pemeriksaan ekspresi RAGE dan diameter glomerulus**

Pada hari ke-87 darah tikus diambil dari pembuluh darah di sinus orbitalis tikus untuk pengukuran kadar glukosa plasma. Darah yang keluar ditampung dalam tabung reaksi steril sebanyak  $\pm 2$  ml.

Tikus dimatikan setelah diambil darahnya dengan cara diinjeksi ketamin, kemudian organ ginjal tikus diambil dan dipisahkan dari jaringan lemaknya. Jaringan dipersiapkan untuk dibuat sediaan IHC. Penilaian mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Pengamatan dilakukan terhadap ekspresi RAGE di glomerulus dan diameter glomerulus.

### **BAB 5. HASIL YANG DICAPAI**

#### **5.1. Hasil Penelitian**

Penelitian ini sebelumnya telah mendapat persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran UGM. Penelitian ini menggunakan tikus Sprague Dawley jantan dengan berat rerata 225,50 gram yang sebelumnya diinduksi dengan streptozotocin (STZ) secara intra-peritoneal dengan dosis 35 mg/kgBB. Sepuluh ekor tikus yang sudah diabetes tersebut ( $\text{GDP} \geq 140 \text{ mm/dL}$ ) dibagi dalam dua kelompok, yaitu 5 ekor tikus untuk kelompok perlakuan dan 5 ekor tikus untuk kelompok kontrol. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data kadar gula darah puasa selama perlakuan, ekspresi RAGE pada glomerulus dan diameter kapsula glomerulus setelah perlakuan. Perlakuan latihan fisik diberikan selama 9 minggu, menggunakan treadmill khusus tikus dengan intensitas *low-moderate*, frekuensi 5x/minggu dengan total waktu selama 9 minggu. Perlakuan latihan fisik tersebut diawali adaptasi treadmill selama satu minggu dengan kecepatan 5 m/menit selama 10 menit, dilanjutkan 8 minggu dengan kecepatan bertingkat mulai 5 menit hingga 20 m/menit selama 1 jam dengan derajat kemiringan  $0^\circ$  (Souza *et al.*, 2007).

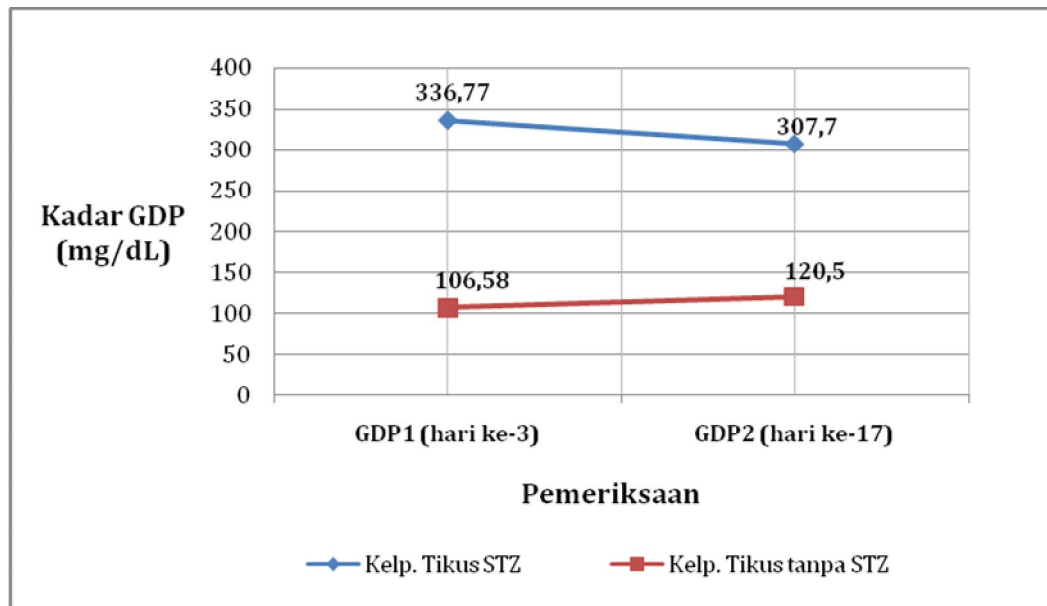
Minggu pertama adaptasi treadmill, tikus berlari dengan kecepatan 5 m/menit selama 10 menit. Fase latihan rutin dimulai pada minggu kedua dengan kecepatan 5 m/menit selama 30 menit, minggu ketiga kecepatan 11 m/menit selama 30 menit, minggu keempat 14 m/menit selama 45 menit. Minggu keenam hingga kesembilan, kecepatan treadmill 20 m/menit selama 1 jam.

#### **5.1.1. Efek latihan fisik teratur dan terukur terhadap kadar gula darah puasa**

Kadar gula darah puasa diukur 4 kali, yaitu hari ketiga sesudah induksi streptozotocin intra peritoneal ( $GDP_1$ ), hari ke-17 sesudah induksi ( $GDP_2$ ), hari ke-47 sesudah induksi ( $GDP_3$ ) dan hari ke-87 sesudah induksi ( $GDP_4$ ). Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan selama 8 jam. Pengambilan darah dilakukan melalui pleksus retroorbitalis tikus sebanyak 1-1,5 cc.

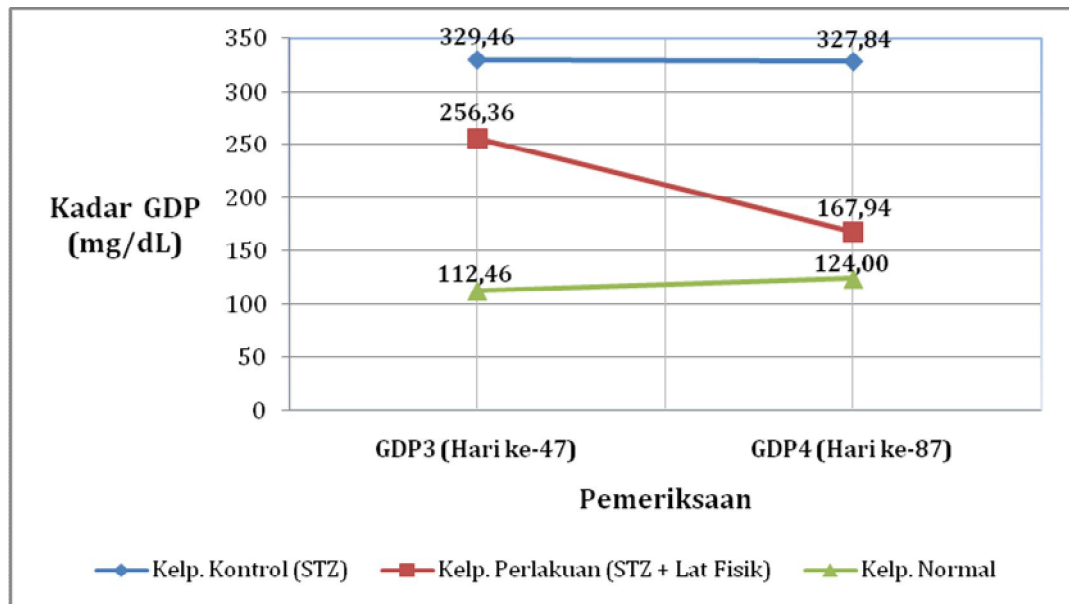
Rerata  $GDP_1$  tikus setelah tiga hari diinduksi STZ adalah  $336,77 \pm 37,30$  mg/dL dengan rerata berat badan  $225,50 \pm 8,09$  gram. Rerata  $GDP_2$  tikus setelah diinduksi STZ dan dikroniskan selama dua minggu adalah  $307,70 \pm 35,66$  mg/dL dengan rerata berat badan  $241,60 \pm 10,74$  gram. Hasil pemeriksaan tersebut menunjukkan bahwa kadar  $GDP_1$  lebih tinggi daripada kadar  $GDP_2$ . Peneliti juga menampilkan kadar GDP pada tikus normal yang tidak diberikan induksi STZ. Data tersebut ditampilkan untuk menunjukkan bahwa sampai akhir sebelum proses randomisasi, kelompok tikus yang diberi induksi streptozotocin masih dalam kondisi hiperglikemia ( $GDP \geq 140$  mg/dL). Rerata  $GDP_1$  kelompok tikus normal adalah  $106,58 \pm 4,18$  mg/dL dengan rerata berat badan  $215,80 \pm 8,36$  gram. Rerata  $GDP_2$  pada kelompok tikus normal adalah  $120,50 \pm 3,69$  mg/dL dengan rerata berat badan  $245,50 \pm 12,83$  gram. Rerata GDP pada pemeriksaan pertama dan kedua peneliti sajikan dalam grafik pada gambar 1.





Gambar 1. Rerata Kadar Gula Darah Puasa Sebelum Randomisasi

Tikus-tikus yang memiliki  $GDP_2 \geq 140$  mg/dL, kemudian dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok 1 yaitu kelompok tikus yang diinduksi STZ tanpa diberi perlakuan apapun sedangkan kelompok 2 yaitu kelompok tikus yang diinduksi STZ dan diberikan perlakuan berupa latihan fisik teratur dan terukur. Rerata  $GDP_3$  menunjukkan kadar yang lebih tinggi pada kelompok kontrol ( $329,46 \pm 76,99$  mg/dL) daripada kelompok perlakuan ( $256,36 \pm 50,68$  mg/dL). Rerata  $GDP_4$  menunjukkan kadar yang lebih tinggi pada kelompok kontrol ( $327,84 \pm 70,35$  mg/dL) daripada kelompok perlakuan ( $167,94 \pm 31,44$  mg/dL). Peneliti juga menampilkan kadar GDP pada tikus normal yang tidak diberikan induksi STZ. Data tersebut ditampilkan untuk menunjukkan bahwa sampai akhir perlakuan, kelompok tikus yang diberi induksi streptozotocin masih dalam kondisi hiperglikemia ( $GDP \geq 140$  mg/dL). Rerata  $GDP_3$  kelompok tikus normal adalah  $112,46 \pm 7,27$  mg/dL dan rerata  $GDP_4$  adalah  $124,00 \pm 11,59$  mg/dL. Rerata GDP pada pemeriksaan ketiga dan keempat peneliti sajikan dalam grafik pada gambar 2.



Gambar 2. Rerata Kadar Gula Darah Puasa Antar Kelompok

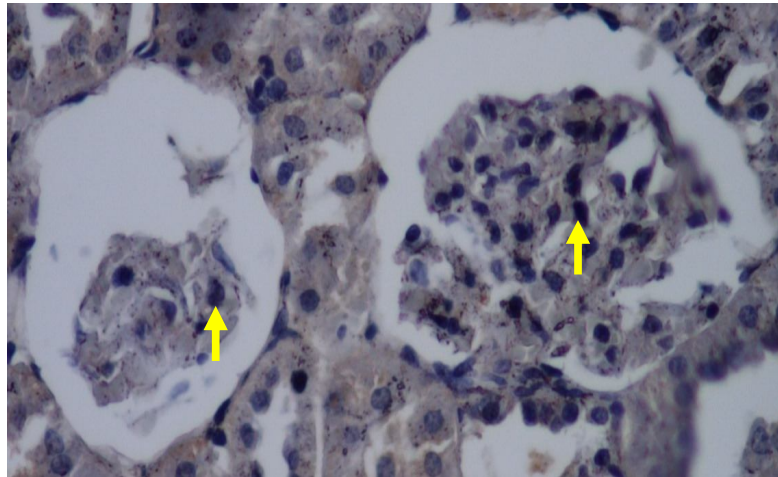
Rerata kadar GDP<sub>4</sub> pada kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus perlakuan, kemudian diuji analisis statistik untuk mengetahui perbedaannya dengan menggunakan uji beda independent t-test. Sebelumnya terlebih dahulu data tersebut diuji normalitas dengan menggunakan *shapiro-wilk*, dikarenakan jumlah sampel kecil ( $\leq 50$ ). Nilai signifikansi uji normalitas GDP<sub>4</sub> pada kelompok kontrol adalah 0,364 dan kelompok perlakuan 0,404. Nilai signifikansi  $\geq 0,05$  sehingga dapat disimpulkan data kedua kelompok tersebut normal.

Tabel 5.1. Uji beda prosentase GDP<sub>4</sub> antara kelompok kontrol (STZ) dan kelompok perlakuan (STZ+latihan fisik)

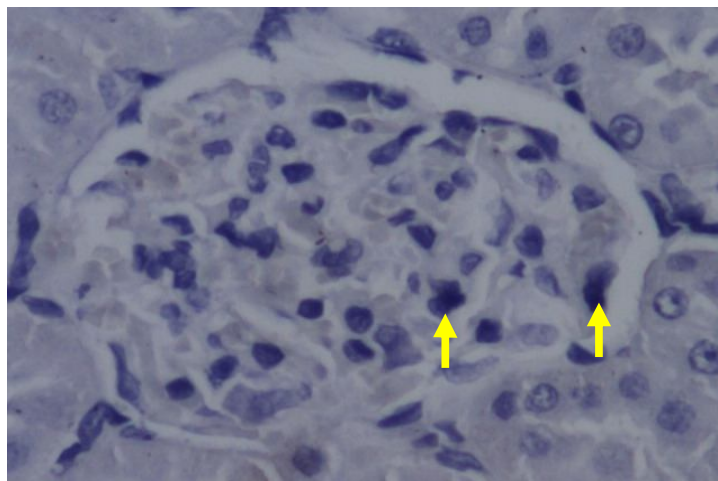
Kelompok	Mean $\pm$ SEM	P value	Keterangan
Kelompok Kontrol	327,84 $\pm$ 70,35	0,048	Ada beda bermakna
Kelompok Perlakuan	167,94 $\pm$ 31,44		

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa nilai signifikansi *independent t-test* adalah 0,048 ( $p \leq 0,05$ ), yang berarti ada perbedaan bermakna antara GDP pada kedua kelompok. Perbedaan rerata (*mean difference*) sebesar 137,86.

**5.1.2. Efek latihan fisik teratur dan terukur dengan ekspresi reseptor *advanced glycation end-products* (RAGE)**



Gambar 3. Gambaran mikroskopis reseptor AGE di glomerulus ginjal tikus kelompok kontrol (STZ) dengan pembesaran 400X (tanda panah menandai sel yang mengekspresikan RAGE)



Gambar 4. Gambaran mikroskopis reseptor AGE di glomerulus ginjal tikus kelompok perlakuan (STZ+latihan fisik) dengan pembesaran 400X (tanda panah menandai sel yang mengekspresikan RAGE)

Reseptor AGE terletak di sitoplasma maupun inti sel. Sel yang dihitung adalah seluruh sel yang terdapat pada 10 glomerulus utuh. Penghitungan reseptor AGE (RAGE) pada penelitian ini menggunakan metode *immunohistochemistry* (IHC)

secara kuantitatif dan kualitatif, yaitu menghitung sel yang positif terwarnai sekaligus membedakan intensitas warnanya.

Gambaran mikroskopis RAGE di glomerulus pada tikus kelompok kontrol, terlihat lebih banyak terekspresi. Gambar 3 menunjukkan warna coklat tua (positif RAGE) tampak lebih banyak dan lebih gelap jika dibandingkan dengan gambar 4. Data yang diperoleh dari pemeriksaan ekspresi RAGE pada kelompok kontrol adalah rata-rata  $95,82 \pm 0,76$  dan pada kelompok perlakuan adalah  $79,12 \pm 3,78$ . Data tersebut kemudian diuji normalitas terlebih dahulu dan diperoleh hasil *p value* pada kelompok kontrol 0,895 dan pada kelompok perlakuan 0,720. Nilai  $p \geq 0,05$  sehingga disimpulkan kedua data tersebut normal. Hasil signifikansi uji beda *independent t-test* adalah 0,003 ( $p \leq 0,05$ ) artinya terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok.

Tabel 2. Uji beda *independent t-test* RAGE di sel-sel glomerulus

Kelompok	Mean $\pm$ SEM	P value	Keterangan
Kelompok Kontrol	$95,82 \pm 0,76$	0,003	Ada beda bermakna
Kelompok Perlakuan	$79,12 \pm 3,78$		

### 5.1.3. Efek latihan fisik teratur dan terukur terhadap diameter glomerulus.

Pengukuran diameter glomerulus dilakukan dengan empat kali pengukuran pada tiap-tiap glomerulus utuh, yaitu: garis vertikal, garis horizontal, garis diagonal kanan, dan garis diagonal kiri. Hal ini disebabkan bentuk lingkaran glomerulus tidak benar-benar bulat, sehingga dengan melakukan pengukuran pada empat garis diagonal tersebut diperoleh rerata diameter glomerulus yang sesungguhnya (Yahya, 2012).

Rerata diameter glomerulus pada kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus perlakuan kemudian diuji analisis statistik untuk mengetahui perbedaannya dengan menggunakan uji beda *independent t-test*. Sebelumnya terlebih dahulu data tersebut diuji normalitas dengan menggunakan *shapiro-wilk*, dikarenakan jumlah sampel kecil ( $\leq 50$ ). Nilai signifikansi uji normalitas diameter glomerulus pada kelompok kontrol adalah 0,548 dan kelompok perlakuan 0,802. Nilai

signifikansi  $\geq 0,05$  sehingga dapat disimpulkan data kedua kelompok tersebut normal. Hasil signifikansi uji beda *independent t-test* adalah 0,106 ( $p \geq 0,05$ ) artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok.

Tabel 3. Uji beda *independent t-test* diameter glomerulus

Kelompok	Mean $\pm$ SEM	P value	Keterangan
Kelompok Kontrol	78,62 $\pm$ 3,33	0,106	Tidak ada beda bermakna
Kelompok Perlakuan	86,68 $\pm$ 2,91		

## 5.2. Pembahasan hasil penelitian

Diabetes mellitus merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia, sebagai akibat dari penurunan sekresi insulin, aksi insulin atau keduanya (ADA, 2011; Sobrevilla *et al.*, 2011). Diabetes mellitus dapat dipelajari lebih lanjut melalui hewan model DM. Salah satu cara untuk membuat hewan model DM adalah dengan induksi STZ (Szkudelski, 2001; Srinivasan & Ramarao, 2007; Ozcelik *et al.*, 2011; Ragbetli & Ceylant, 2011; Sobrevilla *et al.*, 2011; Amid, Awad & Nagy, 2011). Streptozotocin yang diinduksikan akan mengakibatkan kerusakan dan kematian pada sel islet  $\beta$  pankreas melalui fragmentasi DNA (Ragbetli & Ceylant, 2011). Menurut Sobrevilla *et al.* (2011), ada tiga mekanisme utama yang berhubungan dengan kematian sel  $\beta$  yaitu, (1) metilasi DNA akibat pembentukan ion carbonium ( $\text{CH}_3^+$ ) yang dihasilkan saat aktivasi dari enzim *poly ADP-ribose synthetase*, dan merupakan bagian dari mekanisme perbaikan sel karena adanya penurunan  $\text{NAD}^+$ ; (2) pembentukan radikal bebas seperti hidrogen peroksida ; dan (3) produksi nitric oxide. Akbarzadeh *et al.* (2007) menyebutkan bahwa toksisitas STZ pada sel  $\beta$  terjadi pada 2-4 hari setelah induksi. Subyek pada penelitian ini adalah tikus *Sprague dawley* yang diinduksikan STZ secara intraperitoneal dengan dosis 35 mg/kgBB.

Rerata kadar GDP pada kelompok tikus yang diinduksi STZ, baik kelompok kontrol (327,84 $\pm$ 70,35 mg/dL) maupun kelompok perlakuan (167,94 $\pm$ 31,44 mg/dL) sampai dengan hari ke-87 masih  $\geq 140$  mg/dL. Hasil

penelitian ini membuktikan bahwa, induksi STZ dengan dosis tunggal 35 mg/kgBB mampu menciptakan kondisi diabetes pada tikus sampai dengan 12 minggu. Hal ini bertentangan dengan penelitian Skuzdelski (2001); Ragbetli & Ceylant (2010) yang menyatakan bahwa induksi STZ dengan dosis dibawah 40 mg/kgBB kurang efektif untuk membuat hewan model DM. Hasil penelitian ini justru menguatkan penelitian Srinivasan & Ramarao (2007) serta Zhang *et al.* (2008), yang menyebutkan bahwa pada tikus yang diinduksi STZ dengan dosis rendah yaitu 35 mg/kgBB yang disertai pemberian makanan tinggi lemak, dapat menyebabkan kondisi yang menyerupai DM tipe-2, yaitu diabetes yang memiliki kondisi hiperglikemia namun tidak disertai peningkatan kadar gula darah yang drastis.

Menurut Abeleeh *et al.* (2009) kadar glukosa akan mencapai puncak tertinggi pada hari ketiga setelah induksi STZ. Hasil penelitian ini juga menunjukkan hal yang serupa yaitu, rata-rata kadar GDP<sub>1</sub> (hari ketiga *post* induksi STZ) mencapai titik tertingginya ( $336,77 \pm 37,30$  mg/dL) dibandingkan rerata kadar GDP<sub>2</sub> yang diambil pada hari ke-17 setelah induksi STZ ( $307,70 \pm 35,66$ ). Rerata kadar GDP<sub>1</sub> pada tikus yang diinduksi STZ termasuk dalam rentang hiperglikemia sedang (250-450 mg/dL). Hasil tersebut senada dengan penelitian yang dilakukan oleh Sobrevilla *et al.* (2011), yang menyebutkan bahwa pada tikus, hiperglikemia sedang (250-450 mg/dL) adalah kondisi hiperglikemia yang menyerupai DM tipe-2.

Latihan fisik teratur dan terukur merupakan salah satu alternatif untuk memperbaiki kondisi hiperglikemia. Intensitas latihan fisik yang direkomendasikan untuk penderita diabetes adalah intensitas sedang dengan rentang VO<sub>2</sub> max 60-70%, durasi 30-40 menit latihan inti (total 150 menit/minggu), dan frekuensinya 3-4 kali per minggu (Sigal *et al.*, 2006; ADA, 2011).

Hasil penelitian pada kelompok tikus kontrol, GDP<sub>4</sub> (327,84±70,35 mg/dL) mengalami kenaikan dibandingkan GDP<sub>3</sub> (329,46±76,99 mg/dL), meskipun selisih reratanya hanya sedikit yaitu 1,62 mg/dL. Menurut Alsahli dan Gerich (2010), kenaikan GDP yang hanya sedikit ini disebabkan karena pankreas berusaha untuk mengkompensasi hiperglikemia yang terjadi. Akbarzadeh *et al.* (2007) juga menyebutkan bahwa pemberian STZ dosis rendah akan terjadi degenerasi reversibel pada sel  $\beta$  pankreas.

Hasil pemeriksaan pada kelompok perlakuan, rerata GDP<sub>4</sub> (167,94 mg/dL) mengalami penurunan dibandingkan rerata GDP<sub>3</sub> (256,36 mg/dL). Hasil penelitian ini sesuai dengan Coskun *et al.* (2004), yang menyebutkan bahwa latihan fisik teratur dan terukur mempunyai efek melindungi dan mencegah sel  $\beta$  pankreas dari toksisitas yang diakibatkan oleh induksi STZ, yaitu dengan mencegah penurunan *superoxide dismutase* (SOD), *glutathion peroxidase* (GSHPx) dan *catalase* (CAT). Selisih rerata GDP (GDP<sub>3</sub>-GDP<sub>4</sub>) pada kelompok perlakuan adalah 88,42 mg/dL, jauh lebih banyak jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (-1,62 mg/dL) yang justru mengalami kenaikan. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa latihan fisik teratur dan terukur 54,58 kali lebih efektif menurunkan GDP.

Proses perbaikan kontrol glukosa melalui latihan fisik teratur dan terukur dapat terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu (1) stimulasi transport glukosa ke otot; (2) peningkatan aksi insulin pada sel-sel organ yang terlibat dalam latihan fisik dan; (3) regulasi positif yang dirangsang oleh insulin sebagai efek dari latihan fisik yang teratur (Lemos *et al.*, 2011).

Latihan fisik telah diindikasikan sebagai kegiatan yang menyerupai insulin. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan kapasitas otot untuk menangkap glukosa plasma karena penurunan cadangan lemak intramuskular (Lemos *et al.*, 2011). Peningkatan kapasitas otot untuk mengoksidasi lemak sebagai respon latihan fisik aerobik merupakan mekanisme utama yang meningkatkan sensitivitas insulin dalam otot (Roberts *et al.*, 1997). Goodwin (2010) dalam reviewnya

menyebutkan bahwa latihan fisik teratur dan terukur dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di otot skelet, memperbaiki NO sehingga dapat memediasi aliran darah pada otot skelet, mengurangi hormon yang menstimulasi pembentukan glukosa hepatic serta menormalkan kadar lemak darah. Hasil tersebut juga menguatkan teori Giriwijoyo (2008) yang menyebutkan bahwa ambilan glukosa dari darah oleh otot rangka yang berkontraksi dapat meningkat sebesar 30-40 kali lipat. Meningkatnya ambilan glukosa terjadi dikarenakan meningkatnya transport aktif glukosa melalui membran sel otot dan aktifnya enzim-enzim glikolitik dan enzim-enzim oksidatif yang berperan untuk proses pemecahan glukosa.

Hasil uji statistik yang diperoleh dengan menggunakan uji *independent t-test* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna rerata GDP setelah perlakuan pada kedua kelompok ( $p=0,048$ ;  $p\leq 0,05$ ). Hal ini disebabkan rerata perbedaan antara kedua kelompok yang besar, yaitu 159,90. Nilai GDP<sub>4</sub> pada kelompok perlakuan pun hampir mendekati batas normal yaitu 167,94 mg/dL; selisih 27,94 mg/dL sedangkan nilai GDP<sub>4</sub> pada kelompok kontrol masih menunjukkan angka yang tinggi dan menjauhi GDP normal (327,84 mg/dL), meskipun GDP pada kelompok kontrol tersebut masih dalam rentang *mild hiperglikemia*.

Hasil yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kedua kelompok diduga disebabkan nilai GDP pada kelompok kontrol yang tidak terlalu melonjak naik sementara kelompok perlakuan mengalami penurunan yang cukup signifikan. Kadar GDP pada kelompok kontrol tidak melonjak naik dikarenakan adanya mekanisme pankreas dalam mengkompensasi hiperglikemia (Alsahli & Gerich, 2010) akibat degenerasi reversibel pada sel  $\beta$  pankreas pada induksi STZ dosis rendah (Akbarzadeh *et al.*, 2007). Penurunan rerata GDP pada kelompok perlakuan setelah akhir perlakuan cukup tinggi yaitu 167,94 mg/dL, hal ini disebabkan karena perlakuan latihan fisik teratur dan terukur akan menginduksi permintaan energi lebih tinggi (Boor *et al.*, 2009) sehingga ambilan glukosa meningkat 30-40 kali lipat (Giriwijoyo, 2008). Peningkatan permintaan energi di otot skelet disebabkan ambilan glukosa melalui glukosa transporter terutama



GLUT 4 (Goodwin, 2010). Latihan fisik teratur dan terukur juga dapat melindungi kerusakan sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi STZ sehingga dapat mencegah penurunan antoksidan endogen, seperti SOD, GSHPx dan katalase (Coskun *et al.*, 2004).

Kondisi hiperglikemia pada DM akan menyebabkan komplikasi, baik berupa mikrovaskuler maupun makrovaskuler (Hudson *et al.*, 2002; Wiyono, 2003). Komplikasi yang terjadi pada DM disebabkan karena adanya peningkatan ROS. Ada empat jalur abnormalitas hiperglikemia yang memediasi peningkatan ROS yaitu: (1) jalur pembentukan *advanced glycation end-products*; (2) jalur poliol sorbitol; (3) jalur protein kinase C (PKC) dan; (4) jalur heksosamin (Setiawan, 2005; Oever, 2010).

*Advanced glycation end-products* adalah kompleks perubahan biokimiawi (Sourris *et al.*, 2010) yang dibentuk melalui reaksi glikasi non enzimatis antara glukosa dan asam amino (Makita *et al.*, 1991; Hudson *et al.*, 2002). *Advanced glycation end-products* yang berikatan dengan reseptornya (RAGE) akan mengaktifkan kaskade proinflamasi (Hudson *et al.*, 2002; Sourris *et al.*, 2010; Kotani *et al.*, 2011), protrombosis, profibrosis (Bohlender *et al.*, 2005; Beckman *et al.*, 2008) dan aterosklerosis (Radoi *et al.*, 2012). Interaksi antara AGE-RAGE akan meningkatkan produksi ROS intraseluler melalui rangkaian transport elektron, *NADPH oxidase*, *xanthine oxidase* dan metabolisme asam arakidonat (Radoi *et al.*, 2012). Reseptor AGE merupakan reseptor transmembran yang diekspresikan di permukaan sel endotel (Radoi *et al.*, 2012) terutama pada tubulus proksimal (Stern *et al.*, 2002) dan glomerulus (Peppas & Vlassara, 2005; Johnson *et al.*, 2004 *cit* Ramasamy *et al.*, 2005). Menurut Ueno *et al.* (2002); Sourris *et al.* (2010); dan Radoi *et al.* (2012), ikatan AGE-RAGE merupakan kontributor utama komplikasi DM pada ginjal.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna ekspresi RAGE pada glomerulus antara kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan ( $p=0,003$ ;  $p\leq 0,05$ ). Kelompok tikus kontrol mengekspresikan RAGE lebih banyak

(95,82%) dibandingkan tikus perlakuan (79,12%), secara kualitatif hal tersebut dapat dilihat pada gambar 3. Warna coklat pada sel-sel di glomerulus tampak lebih gelap, hal ini menunjukkan ekspresi RAGE pada tikus kontrol lebih banyak jika dibandingkan dengan tikus perlakuan (gambar 4). Hasil penelitian ini mendukung penelitian Boor (2009) yang menyatakan bahwa, permintaan energi yang tinggi pada otot yang aktif bergerak saat latihan fisik teratur dan terukur, mampu menurunkan jumlah AGE di plasma maupun jaringan dengan cara mengurangi produk glikasi reaktif seperti *glucose-6-phosphate*, *fructose-1,6-diphosphate*, *glyceraldehydes-3-phosphate* maupun *fructose-3-phosphate* pada jalur poliol.

Gambaran mikroskopis glomerulus tikus kontrol (gambar 3) menunjukkan penebalan ruang kapsula glomerulus jika dibandingkan dengan tikus perlakuan (gambar 4), hal ini menunjukkan adanya glomerulosklerosis pada tikus kontrol. Hasil penelitian ini mendukung penelitian Wendt *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa ikatan antara AGE-RAGE akan menyebabkan peningkatan membran basal (kolagen tipe IV), produksi berlebih dari matriks protein, merubah ekspresi matriks metalloproteinase dan proteinase inhibitor, menginduksi stres oksidatif pada mesangial serta mengaktivasi protein kinase C (Peppia & Vlassara, 2005). Selanjutnya, kondisi tersebut akan meningkatkan produksi sitokin proinflamasi (TGF- $\beta$ ) dan akan mengakibatkan glomerulosklerosis, yang ditandai dengan penebalan dinding kapiler glomerulus dan arteri renalis (Ritz & Orth, 1999; Radoi *et al.*, 2012). Pada keadaan yang lebih lanjut, ekspresi berlebih dari RAGE akan meningkatkan albuminuria, kreatinin serum dan hipertrofi renal (Peppia & Vlassara, 2005). Menurut Wendt *et al.* (2003), tikus yang diinduksi STZ dosis rendah terbukti mengalami glomerulosklerosis setelah 12 minggu dengan glukosa darah  $\geq 250$  mg/dL. Latihan fisik teratur dan terukur terbukti dapat menurunkan ekspansi matriks mesangial glomerulus dan fibrosis tubulointersisial dengan mengurangi jumlah AGE, *N(epsilon)-carboxy-methyllysine* dan produk-produk *advanced oxidation protein*. Oleh karena itu, latihan fisik merupakan pendekatan

nonfarmakologi yang mudah dan efektif untuk memperbaiki gejala awal diabetic nefropati (Radoi *et al.*, 2012).

Hasil penelitian terhadap ukuran diameter glomerulus, didapatkan bahwa rata-rata diameter glomerulus pada kelompok tikus induksi STZ saja adalah 78,62 $\mu$ m; sedangkan rata-rata diameter glomerulus kelompok tikus induksi STZ yang diberi latihan fisik adalah 86,68 $\mu$ m. Hasil penelitian ini mendukung penelitian Allah, Dkhil, dan Danfour (2007) yang menyebutkan bahwa kondisi hiperglikemia pada tikus selama sepuluh hari sudah mulai menunjukkan adanya pembesaran glomerulus, arterial afferent maupun afferent. Hiperglikemia pada tikus yang terjadi setelah dua bulan mulai menunjukkan ukuran glomerulus menjadi lebih kecil, glomerulosklerosis serta diikuti penurunan jumlah sel-sel endotel pada glomerular. Hal ini disebabkan pada kondisi awal hiperglikemia, akan terjadi peningkatan laju filtrasi pada glomerulus (LFG). Peningkatan LFG ini disebabkan oleh meningkatnya aliran darah ke ginjal, peningkatan tekanan hidrostatik transglomerular, dan peningkatan koefisien ultrafiltrasi glomerular (Mogensen dan Andersed, 2002).

Kondisi hiperglikemia yang terjadi kronik akan menyebabkan gangguan pada mikro maupun makrovaskular, salah satunya adalah glomerulus. Glomerulus merupakan kumpulan kapiler darah yang sangat halus, yang berfungsi untuk ultrafiltrasi cairan darah (Sherwood, 2010). Apabila terjadi gangguan di glomerulus ginjal maka akan terjadi perubahan hemodinamik, perubahan metabolisme, disfungsi endotel, aktivasi sel inflamasi dan perubahan ekspresi faktor-faktor pembuluh darah (Wendt *et al.*, 2003).

Gangguan awal pada jaringan ginjal yang merupakan dasar terjadinya diabetes nefropati adalah terbentuknya proses hiperfiltrasi, hiperperfusi membran basal glomerular. Gambaran histologi pada diabetes nefropati memperlihatkan adanya penebalan pada membran basal glomerulus, ekspansi mesangial glomerulus dan pada akhirnya menyebabkan glomerulosklerosis, hyalinosis arterial efferent, serta fibrosis tubulointersitial (Boor *et al.*, 2009).

Uji beda dengan menggunakan *independent t-test* pada diameter glomerulus, diperoleh hasil bahwa *p value* 0,106 ( $p \geq 0,05$ ) sehingga disimpulkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada diameter glomerulus kelompok tikus induksi STZ saja maupun pada kelompok tikus induksi STZ yang diberikan latihan fisik. Tidak terdapatnya perbedaan bermakna tersebut diduga disebabkan induksi streptozotocin yang dilakukan pada penelitian ini yang menggunakan dosis rendah dan tunggal, yaitu 35 mg/kgBB. Menurut Akbarzadeh *et al.* (2007) bahwa pemberian STZ dosis rendah akan terjadi degenerasi reversibel pada sel  $\beta$  pankreas, yaitu sebuah kondisi dimana tubuh tikus memiliki kemampuan untuk menyembuhkan hiperglikemia yang dialaminya.

## **BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA**

Penelitian untuk tahap selanjutnya adalah mengukur ketebalan ruang kapsula glomerulus untuk mengetahui derajat glomerulosklerosis.

## **BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **7.1. Kesimpulan**

1. Latihan fisik teratur dan terukur pada tikus jantan yang diinduksi STZ berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah.
2. Latihan fisik teratur dan terukur pada tikus jantan yang diinduksi STZ berpengaruh terhadap penurunan ekspresi RAGE di glomerulus.
3. Latihan fisik teratur dan terukur kurang berpengaruh pada diameter glomerulus ginjal.

### **7.2. Saran**

Perlu dilakukan pengukuran derajat glomerulosklerosis dan tingkat proteinuria maupun albuminuria.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abeleeh, M.A., Ismail, Z.B., Alzaben, K.R., Abu-Halaweh, S.A., Al-Essa, M.K., Abuabeeleh, J., Alsmady, M.M. 2009. Induction of diabetes mellitus in rats using intraperitoneal streptozotocin : a comparation between 2 strains in rats. *Eur J Sci Res.* 32 (3):398-402.
- ADA. 2011. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care.* 34;1:S12-S13.
- Akbarzadeh, A., Norouzian, D., Mehrabi, M.R., Jamshidi, S.H., Farhangi, A., Verdi, A.A. 2007. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem.* 22 (2):60-64.
- Allah, Awad., Dkhil, M.A., Danfour, M.A. 2007. Structural alterations of the glomerular wall and vessels in early stages of diabetes mellitus (Light and transmission electron microscopic study). *Lybian J Med.* 135-138.
- Alsahli, M., Gerich, J.E. 2010. *Abnormalities of insulin secretion and  $\beta$ -cell defects in type-2 diabetes, ch 10.* 4<sup>th</sup> ed. Wiley-Blackwell. Oxford. UK.
- Amid, K.A., Awad, E.M, Nagy, M.A. 2011. Effects of panax quinquefolium on streptozotocin-induced diabetic rats: role of C-peptide, nitric oxide and oxidative stress. *Int J Clin Exp Med.* 4 (2):136-147.
- Angelis, De K.L.D., Ago, Dall P., Oliveira, A.R., Peixoto, L.R.A., Lacchini, S., Gandoski, G., Fernandes, T.G., Irigoyen, M.C. 2000. Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res.* 33:635-641.
- Asnawati, 2010. Ekspresi CYP19 aromatase korteks adrenal tikus sprague dawley yang diovaektomi lebih tinggi akibat olah raga teratur. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjahmada.
- Atalay, Mustafa & Laaksonen, E. David. 2002. Review article : Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J Sport Sci Med.* 1:1-14.
- Beckman, J.A., Golgfine, A.B., Gordon, M.B. 2001. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in human. *Circulation.* 103:1618-1623.
- Bohlender, M. J., Franke, S., Stein, G., Wolf, G. 2005. Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 289:F645-F659.
- Boor, P., Celec, P., Behuliak, M., Grancic, P., Kebis, A., Kukan, M., Pronayova, N., Liptaj, T., Ostendorf, T., Sabekova, K. 2009. Regular moderate exercise reduces advances glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese zucker rats. *J Metabol.* 58:1669-1677.

- Braun, B., Zimmermann, M.B. & Kretchmer, N. 1995. Effects of exercise intensity on insulin sensitivity in women with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Appl Physiol.* 78:300-306.
- Brownlee, M. 1997. Advanced glycation end products in diabetic complications. *Curr Opin Endocrinol Diabetes.* 3:291-297.
- Cade, W. Tood. 2008. Diabetes related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther.* 88:1322-1335.
- DeFronzo, Ralph. A. 2004. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin N Am.* 88:787-835.
- Goodwin, M.L. 2010. Review article, blood glucose regulation during prolonged, submaximal, continuous exercise : a guide for clinicians. *J Diabetes Sci Technol.* 4(3):694-705.
- Hudson, I. Barry, Hofmann, A. Marion, Bucciarelli, L., Wendt, T., Moser, B., Lu, Y., Qu, W., Stern, M. David, D'Agati, V., Yan, S.D., Yan, S.F., Grant, J. Peter, Schmidt, A.M. 2002. Glycation and diabetes: the RAGE connection. *Current Science.* 83 (12):1515-1521.
- Indriyani, Puji., Supriyatno, Heru., Santoso, Agus. 2007. Pengaruh latihan fisik; senam aerobik terhadap penurunan kadar gula darah pada penderita DM tipe 2 di wilayah Puskesmas Bukateja Purbalingga. *Media Ners.* 1(2):49-99.
- Kotani, K., Caccavello, R., Sakane, N., Yamada, T., Taniguchi, N., Gugliucci, A. 2011. Influence of physical activity intervention on circulating soluble for elderly subject. *J Clin Med Res.* 3(5):252-257.
- Kurdak, H., Sandikci, S., Ergen, N., Dogan, A., Kurdak, S.S. 2010. The effects of regular aerobic exercise on renal functions in streptozotocin induced diabetic rats. *J Sport Sci Med.* 9:294-299.
- Lemos, E.T., Nunes, S., Texiera, F., Reis, F. 2011. Regular physical exercise training assist in preventing type 2 diabetes development : focus on antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovascular Diabetology.* 10 (12): 1- 15.
- Lombardi, D.M., Reidy, M.A., Schwartz, S.M. 1991. Methodologic considerations important in the accurate quantitation of aortic smooth muscle cell replication in the normal rat. *Am J Pathol.* 138(2):441-446.
- Ma, Z.A., Zhao, Z., Turk, J. Mitochondrial dysfunction and  $\beta$  cell failure in type-2 diabetes mellitus. Review article. *J Exp Diabetes Res.* 2011. 1-11.
- Makita, Z., Radoff, S., Rayfield, J.E., Yang, Z., Skolnik, E., Delaney, V., Friedman, E.A., Cerami, A., Vlassara, H. 1991. Advanced glycation end products in patients with diabetic nephropathy. *Nejm Org.* 19:836-842.
- Mogensen, C.E., Andersed M. Diabetes. 2002; 22-9:706-712.

- Nuttal, S.L., Dunne, F., Kendal, M.J., Martin, U. 1999. AGE independent oxidative stress in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med.* 92:33-38.
- Ozcelik, D., Tuncdemir, M., Ozturk, M., Uzun, H. 2011. Evaluation of trace elements and oxidative stress levels in the liver and kidney of streptozotocin-induced experimental diabetic rat model. *Gen Physiol Biophys.* 30:356-363.
- Peppia, M., Vlassara, H. 2005. Advanced glycation end products and diabetic complications : a general overview. *Hormones.* 4(1):28-37.
- Perkasa, H., Winarto, Hamidy, M.Y. 2010. Pengaruh glibenklamid kombinasi minyak buah merah (*Pandanus conoideus lam.*) terhadap tingkat kerusakan korpuskulum malphigi renalis tikus jantan galur wistar diabetes. *B.I.Ked.* 1-14.
- Radoi, V., Lixandru, D., Mahora, M., Virgolici, B. 2012. Advanced glycation end products in diabetes mellitus : mechanism of action and focused treatment. *Rom Acad. Series B* (1):9-19.
- Ragbetli, C., Ceylnt, E. 2010. Effect of streptozotocin on biochemical paramaters in rats. *Asian J Chem.* 22(3):2375-2378.
- Rahbani-Nobar, M.E, Rahimi-Pour, A., Rahbani-Nobar, M., Adi-Beig, F., Mirhashemi, S.M. 1999. Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in diabetic patients. *MJIAS.* 12(4):109-1014
- Ramasamy, R., Susan J., Vannucci, Shirley, Kevan Herold, Shi Fang Yan, and Ann Marie Schmidt. 2005. Review : Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. *Glycobiology.* 15 (7):16R–28R.
- Ritz, E & Orth, S.R. 1999. Nephropathy in patiens with type 2 diabetes mellitus. Review article. *N Engl J Med.* 341 (15): 1127-1133.
- Roberts, C.K., Barnard, R.J., Sheck, S.H., Balon, T.W. 1997. Exercise—stimulated glucose transport in skeletal muscle is nitric oxide dependent. *Am J Physiol.* 272:E220-E225.
- Setiawan, B., Suhartono, E. 2005. Stress oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes mellitus. *Maj Kedokt Ind.* 55(2):86-91.
- Sherwood, Lauralee. 2011. *Human Physiology : From Cell to Systems.* Alih bahasa: Brahm U. Pendit. Editor: Nella Yusnita. EGC. Jakarta. 6:19;76.
- Sigal, R.J., Kenny, G.P., Wasserman, D.H., Sceppa, C.C., White, R.D. 2006. Physical activity/exercise and type 2 diabetes, a consensus statement from the american diabetes association. *ADA.* 1-6.

- Sobrevilla, V.J., Villa, B.V.D., Aguilar, C.N., Ramos, R.R., Avila, V.E., Sepulveda, S.E., Aguilar, A.F. 2011. Effect of varying dose and administration of streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice. *Proc West Pharmacol Soc.* 54:5-9.
- Sourris, K.C., Harcourt, B.E., Penfold, S.A., Yap, F.Y.T., Morley, A.L., Morgan, P.E., Davis, M.J., Baker, S.T., Jerums, G., Forbes, J.M. 2010. Modulation of the cellular expression of circulating advanced glycation end-product receptors in type 2 diabetic nephropathy. *Exp Diabetes Res.* 1-9.
- Souza, S.B.C., Flues, K., Paulini, J., Mostarda, C., Rodrigues, B., Souza, L.E., Irigoyen M-C., Angelis KD. 2007. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. *Am Heart J.* 50:786-791.
- Srinivasan, K., Ramarao, P. 2007. Animals model in type 2 diabetes research : an overview. *Indian J Med Res.* 125:451-472.
- Stern, D., Yan, S.D., Yan, S.F., Schmidt, A.M. 2002. Receptor for advanced glycation end products : receptor magnifying cell stress in diverse pathologic setting. *Adv Drug Deliv Rev.* 54(12): 1615-1625.
- Touchberry, C.D., Ernsting, M., Haff, G., Kilgore, J.L. 2004. Training alterations in elite cyclists may cause transient changes in glomerular filtration rate. *J Sport Sci Med.* 3:28-36.
- Ueno, Y., Kizaki, M., Nakagiri, R., Kamiya, T., Sumi, H., Osawa, T. 2002. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr.* 132:897-900.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) 35. 2000. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ.* 321:405-412.
- Uribarri, Jaime & Tuttle, R. Katherine. 2006. Advanced glycation end products and nephrotoxicity of high-protein diets. *Clin J Am Soc Nephrol.* 1:1293-1299.
- Wendt, T.M., Tanji, N., Guo, J., Kislinger, T.R., Qu, Wu, Lu, Y., Bucciarelli, L.G., Rong, L.L., Moser, B., Markowitz, G.S., Stein, G., Bierhaus, A., Liliensiek, B., Arnold, B., Nawroth, P.P., Stern, D.M., D'aggati, V.D., Schmidt, A.M. 2003. RAGE drives the development of glomerulosclerosis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Am J Pathol.* 162:1123-1137.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. 2004. Global prevalence of diabetes : estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care.* 27(5):1047-1053.



- Yahya, K. 2012. Pengaruh elektroakupunktur titik shenshu (bl-23) dan zusanli (st-36) terhadap gambaran histologis glomerulus ginjal pada tikus yang diinduksi streptozotocin. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret.
- Yardley, J.J., Alberga, A., Kenny, G.P., dan Sigal, R.J. 2010. *Lifestyle Issue: Exercise in Textbook of Diabetes Fourth Edition*. Ed: Richard, I.G.H., Clive, S.C., Allan, F., dan Barry, J.G. London: Willey-Blackwell.
- Zhang, M., Lv, X-Y., Li, J., Xu, Z-G., Chen, L. 2008. The characterization on high-fat diet and multiple low dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res*. 1-9.

## Lampiran 1. Instrumen

### 1.1. Tabulasi Data

TIKUS	RAGE	MDA	GDP 1	GDP 2	GDP 3	GDP 4	Mean GDP	DIAMETER	BB 1	BB 2	BB 3	BB 4	KELP
EKI	95,47	9,22	377,00	419,70	462,00	479,20	434,48	70.78	174,00	182,00	211,00	207,00	1
EKA	96,48	9,50	427,00	410,10	466,90	468,90	443,23	71.76	190,00	205,00	187,00	184,00	1
KON	93,43	12,31	170,50	216,10	128,90	174,30	172,45	87.99	242,00	280,00	292,00	325,00	1
PL	98,11	6,12	473,10	412,70	111,70	202,90	300,10	78.87	220,00	233,00	286,00	253,00	1
PK	95,60	8,02	445,30	286,10	432,40	359,00	380,70	83.71	223,00	244,00	265,00	272,00	1
											248,20	248,20	
EX3	92,13	10,53	277,80	395,70	362,40	279,00	328,73	89.2	248,00	217,00	234,00	223,00	2
EX4	78,77	10,14	451,20	146,40	227,00	129,80	238,60	83.73	236,00	283,00	253,00	266,00	2
EX6	70,12	8,97	156,30	172,40	192,20	164,00	171,23	94.37	255,00	264,00	314,00	336,00	2
EX7	81,07	10,27	343,70	210,30	140,50	137,60	208,03	77.18	228,00	234,00	238,00	244,00	2
EX8	73,50	7,09	245,80	407,50	387,90	101,10	285,58	88.9	239,00	274,00	272,00	278,00	2
											262,20	269,40	

### 1.2. Perhitungan Statististik

#### 1.2.1. Normalitas Data GDP

Tests of Normality							
KELP		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
RAGE	1	.219	5	.200 <sup>+</sup>	.973	5	.895
	2	.209	5	.200 <sup>+</sup>	.948	5	.720
MDA	1	.218	5	.200 <sup>+</sup>	.975	5	.907
	2	.298	5	.166	.834	5	.150
GDP1	1	.295	5	.179	.802	5	.084
	2	.162	5	.200 <sup>+</sup>	.990	5	.980
GDP2	1	.345	5	.051	.800	5	.081
	2	.273	5	.200 <sup>+</sup>	.821	5	.119
GDP3	1	.325	5	.091	.787	5	.064
	2	.225	5	.200 <sup>+</sup>	.878	5	.299
DP4	1	.215	5	.200 <sup>+</sup>	.891	5	.364
	2	.267	5	.200 <sup>+</sup>	.899	5	.404

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

#### Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DIAMETER	1	,221	5	,200 <sup>*</sup>	,923	5	,548
	2	,234	5	,200 <sup>*</sup>	,959	5	,802

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

### 1.2.2. Independent T-test

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
SELISIHGDP	Equal variances assumed	1.155	.314	-2.548	8	.034	-137.86000	54.10449	-262.62517	-13.09483
	Equal variances not assumed			-2.548	5.370	.048	-137.86000	54.10449	-274.10883	-1.61117

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
RAGE	Equal variances assumed	4.150	.076	4.331	8	.003	16.70000	3.85572	7.80868	25.59132
	Equal variances not assumed			4.331	4.323	.010	16.70000	3.85572	6.30312	27.09688
MDA	Equal variances assumed	.440	.526	-.306	8	.767	-.36600	1.19595	-3.12387	2.39187
	Equal variances not assumed			-.306	6.734	.769	-.36600	1.19595	-3.21674	2.48474

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
DIAMETER	Equal variances assumed	,173	,689	-1,820	8	,106	-8,05400	4,42527	-18,25869	2,15069
	Equal variances not assumed			-1,820	7,857	,107	-8,05400	4,42527	-18,29121	2,18321

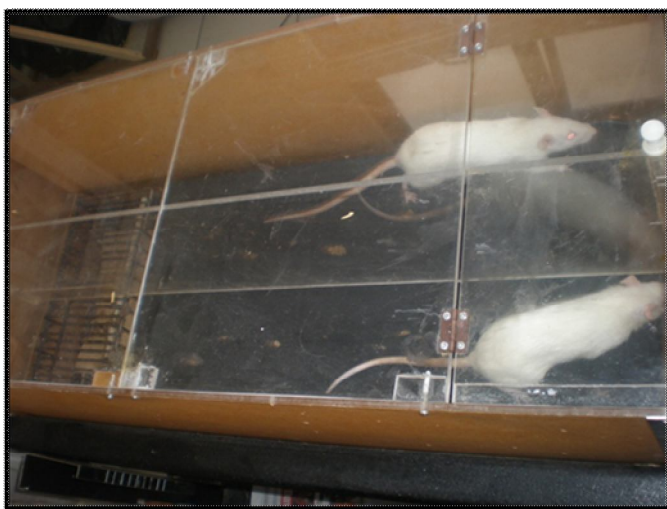
#### 1.2.4. Dokumentasi Kegiatan Dan Produk



Penimbangan berat badan



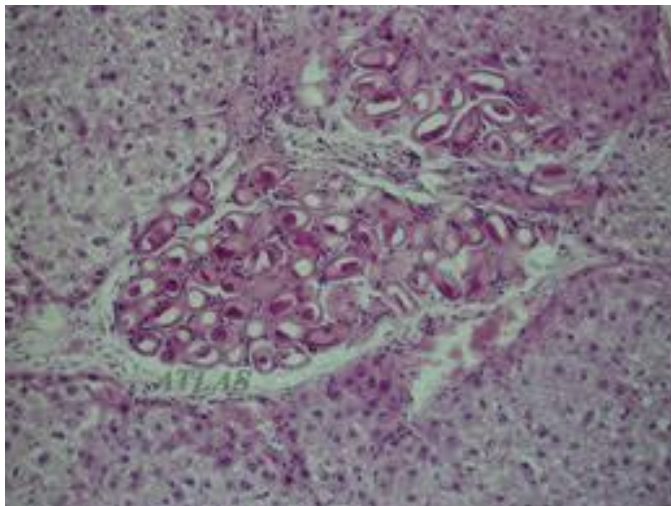
Pemeliharaan hewan coba



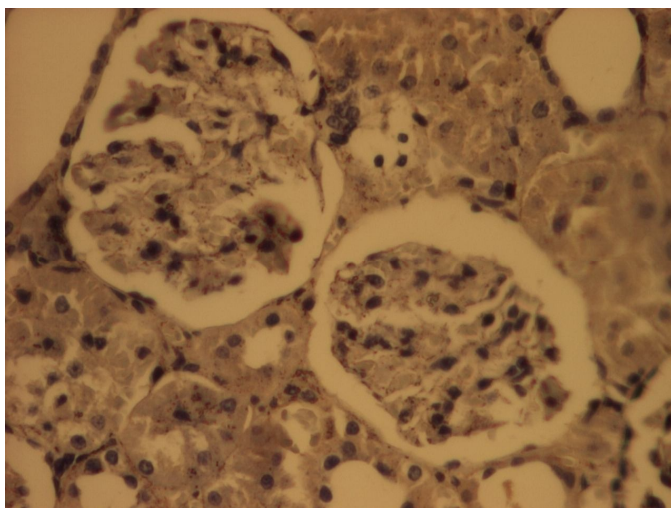
Treadmill tikus



Blok parafin



Pengecatan hematosilin  
eosin pada ginjal tikus



Pengecatan IHC:  
pemberian antibodi  
RAGE

## Lampiran 2. Personalia Tenaga Penelitian Beserta Kualifikasinya

### 2.1. Ketua Penelitian

#### A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Diyah Candra Anita K., S.Kep., Ns., MSc.
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	06.06.069
5	NIDN	0504098201
6	Tempat dan Tanggal lahir	Magelang, 4 September 1982
7	E-mail	<a href="mailto:diyah.candra@yahoo.com">diyah.candra@yahoo.com</a>
8	Nomor Telepon/ HP	0818294575
9	Alamat Kantor	STIKES 'Aisyiyah Yogyakarta
10	Nomor Telepon/Faks	(0274) 4469199
11	Lulusan yang Telah Dihasilkan	S1= 20 orang
12	Mata Kuliah yang Diampu	1. Ilmu Dasar Keperawatan 3 (Anatomi, Fisiologi, Biokimia) 2. Keperawatan Dewasa 1 3. Keperawatan Dewasa 2

#### B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Diponegoro	Universitas Gadjah Mada
Bidang Ilmu	Ilmu Keperawatan	Ilmu Kedokteran Dasar & Biomedis (Faal)
Tahun Masuk-Lulus	2000-2005	2010-2013
Judul Skripsi/Tesis	Hubungan Antara Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Mahasiswa <i>Kost</i> Tentang Hepatitis A Terhadap Kejadian Sakit Hepatitis A di Kota Semarang	Efek Latihan Fisik Teratur dan Terukur Pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> Jantan Diabetes Induksi Streptozotocin Dalam Mencegah Komplikasi Ginjal. Kajian Terhadap Kadar Gula Darah, Ekspresi RAGE di Glomerulus dan

		Kadar MDA di Ginjal.
Nama Pembimbing	1. Shobirun, M.N. 2. Suhartini, S.Kp.	1. dr. Sri Lestari, MSc., AIFM 2. Prof. dr. Sri Kadarsih, MSc., Ph.D., AIFM.

### C. Pengalaman Penelitian dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1.	2008	Studi Korelasi Antara Dukungan Sosial Keluarga Dengan Kekambuhan Hipertensi Pada Lansia di Dusun Bapangan Kecamatan Galur Kabupaten Kulon Progo Yogyakarta	Kopertis	1.500.000
2.	2008	Efektifitas Pemberian Jus Aloe Vera Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Penderita Diabetes Millitus di Kota Yogyakarta	Dikti	10.000.000
3.	2009	Efektifitas Pemasangan Kateter Pada Pria Dengan Menggunakan Jelly Yang Dimasukkan Uretha Dengan Jelly Yang Dioleskan Di Kateter Terhadap Respon Nyeri Klien di Bangsal Rawat Inap Kelas 3 RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta Tahun 2009	Dikti	9.250.000
4.	2013	Pengaruh Latihan Fisik terhadap Tingkat Kerusakan Glomerulus Ginjal Tikus Jantan Galur Sprague Dawley Diabetes. Kajian terhadap Ekspresi <i>RAGE</i> dan Diameter Glomerulus	Dikti	12.500.000
5.	2013	Hubungan Antara Kadar Gula Darah dan Kadar Malondialdehid Ginjal Tikus Induksi Diabetes Setelah Latihan Fisik	STIKes 'Aisyiyah Yogyakarta	5.000.000



**D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir**

No	Tahun	Judul Pengabdian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1	2010	Upaya Peningkatan Kemampuan Warga Dalam Pertolongan Kegawatdaruratan Dengan <i>First Responder Emergency Training</i>	STIKES 'Aisyiyah Yogyakarta	750.000

**E. Publikasi Artikel Ilmiah dalam Jurnal dalam 5 Tahun terakhir**

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume Jurnal
1.	Efektifitas Pemberian Jus Aloe Vera Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Penderita Diabetes Millitus di Kota Yogyakarta	Jurnal Keperawatan & Kebidanan	Vol. 5, No. 2, Desember 2009, ISSN 1858-0610
2.	The Effect Of Soy Bean Milk Consumption On The Control Of Blood Glucose Level On The Type 2 Diabetes Mellitus Patients At Besalen And Tampungan Bantul Yogyakarta In 2009	Jurnal Keperawatan & Kebidanan	Vol. 6, No. 1, Juni 2010, ISSN 1858-0610
3.	Studi Komparasi Keefektifan Peran Pengawas Minum Obat (PMO) Dari Keluarga Dan Bukan Keluarga Dengan Kesembuhan Penderita Tuberculosis Paru Di BP4 Unit Minggiran Kota Yogyakarta Tahun 2009	Jurnal Keperawatan & Kebidanan	Vol. 6, No. 1, Juni 2010, ISSN 1858-0610

**F. Pemakalah Seminar Ilmiah (Oral Presentation) dalam 5 Tahun terakhir**

No	Nama Pertemuan Ilmiah/Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1.	Pelatihan Kader Kesehatan Lansia	Peran Kader Dalam Pelayanan Kesehatan Lansia	13-14 Januari 2006, Kelurahan Tandang Kecamatan Tembalang Semarang
2.	Pelatihan Kader Kesehatan KIA	Gizi Bayi, Balita dan Anak Sekolah	17-18 Januari 2006, Kelurahan Tandang Kecamatan Tembalang Semarang
3.	Seminar <i>e-learning</i>	Kurikulum Keperawatan Dewasa 2 Berbasis <i>e-learning</i>	2009, Aula STIKES 'Aisyiyah

4.	Talk Show ILMIKI	Gaya Hidup Tidak Sehat Yang Mengakibatkan Penyakit DM	9 Mei 2010, Monumen Serangan Umum 1 Maret.
5.	Pelatihan Proposal Penelitian Dosen Pemula DIKTI	Kiat-kiat Tembus Penelitian Dikti	2013, Akademi Kesehatan Karya Husada

**G. Karya Buku dan 5 Tahun Terakhir**

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1				

**H. Perolehan HKI dalam 5-10 Tahun Terakhir**

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1				

**I. Pengalaman Merumuskan Kebijakan publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun Terakhir**

No	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Lainnya yang Telah Ditetapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon /masyarakat
1				

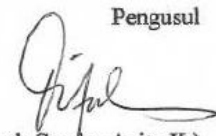
**J. Penghargaan dalam 10 Tahun Terakhir (dari Pemerintah, Asosiasi atau Institusi Lainnya)**

No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1			

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pelaporan hasil penelitian hibah.

Yogyakarta, 25 Desember 2013

Pengusul  
  
 (Diyah Candra Anita K.)

## 2.2. Anggota Penelitian

### A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Lutfi Nurdian A., S.Kep., Ns., MSc.
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	05.10.063
5	NIDN	0523028001
6	Tempat dan Tanggal lahir	Bantul, 23 februari 1980
7	E-mail	lutfi.asnindari@gmail.com
8	Nomor Telepon/ HP	082138284636
9	Alamat Kantor	STIKES 'Aisyiyah Yogyakarta
10	Nomor Telepon/Faks	(0274) 4469199
11	Lulusan yang Telah Dihasilkan	S1= 20 orang
12	Mata Kuliah yang Diampu	1. Ilmu Dasar Keperawatan 3 (Anatomi, Fisiologi, Biokimia) 2. Keperawatan Gerontik 3. Keperawatan Dewasa

### B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Gadjah Mada	Universitas Gadjah Mada
Bidang Ilmu	Ilmu Keperawatan	Ilmu Kedokteran Dasar & Biomedis (Faal)
Tahun Masuk-Lulus	2002-2005	2010-2013
Judul Skripsi/Tesis	Hubungan tipe kepribadian perawat dengan pelaksanaan tahapan komunikasi terapeutik di RSUD Kota Yogyakarta	Efek Latihan Fisik Teratur dan Terukur Pada Kualitas kulit tikus <i>Sprague Dawley</i> yang Dilakukan Ovariektomi, Kajian terhadap kadar estrogen, kadar reseptor estrogen $\beta$ , jumlah fibroblast, ketebalan epidermis dan dermis.

Nama Pembimbing	1. Intansari Nurjannah, S. Kp. 2. Lely Lusmilasari, S. Kp., M. Kes.	3. Prof. dr. Sri Kadarsih, MSc., Ph.D., AIFM. 4. dr. Harjadi. Sp. PA (K)
-----------------	--	---

### C. Pengalaman Penelitian dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1.	2013	Pengaruh Latihan Fisik terhadap Tingkat Kerusakan Glomerulus Ginjal Tikus Jantan Galur Sprague Dawley Diabetes. Kajian terhadap Ekspresi <i>RAGE</i> dan Diameter Glomerulus	Dikti	12.500.000
2.	2013	Perbedaan jumlah fibroblast, ketebalan epidermis dan dermis kulit tikus SD yang dilakukan Ovariectomi dan Tidak	Dikti	10.000.000

### D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1	2010	Upaya Peningkatan Kemampuan Warga Dalam Pertolongan Kegawatdaruratan Dengan <i>First Responder Emergency Training</i>	STIKES 'Aisyiyah Yogyakarta	750.000

### E. Publikasi Artikel Ilmiah dalam Jurnal dalam 5 Tahun terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume Jurnal

### F. Pemakalah Seminar Ilmiah (Oral Presentation) dalam 5 Tahun terakhir

No	Nama Pertemuan Ilmiah/Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat

**G. Karya Buku dan 5 Tahun Terakhir**

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit

**H. Perolehan HKI dalam 5-10 Tahun Terakhir**

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1				

**I. Pengalaman Merumuskan Kebijakan publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun Terakhir**

No	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Lainnya yang Telah Ditetapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon /masyarakat
1				

**J. Penghargaan dalam 10 Tahun Terakhir (dari Pemerintah, Asosiasi atau Institusi Lainnya)**

No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1			

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah.

Yogyakarta, 16 Desember 2013

Pengusul



Lutfi Nurdian A., S. Kep., Ns. MSc.

**Lampiran 3. Naskah Publikasi (Submitted di JKP Universitas Padjajaran)**

**LATIHAN FISIK MAMPU MENURUNKAN GLUKOSA DARAH DAN  
EKSPRESI RESEPTOR GLIKSASI PADA DIABETES**

**Diyah Candra Anita Kalbuningrum, Lutfi Nurdian Asnindari, Sri Lestari  
Sulistyorini, Sri Kadarsih**

Departemen Fisiologi FK UGM

Gedung Radioputro, Lantai 5, Universitas Gadjah Mada Jl. Farmako Sekip Utara,  
Yogyakarta 55281 (email: diyah.candra@yahoo.com)

**INTISARI**

**Pendahuluan.** Penyebab utama komplikasi pada diabetes mellitus adalah adanya kondisi stres oksidatif karena peningkatan *reactive oxygen species* (ROS). Peningkatan ROS tersebut salah satunya dipicu karena peningkatan *advanced glycation end-products* (AGEs) yang berikatan dengan reseptornya (RAGE). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi manfaat latihan fisik dalam mencegah komplikasi pada ginjal akibat hiperglikemia.

**Metode.** Penelitian ini merupakan eksperimen murni dengan rancangan *post test only group design*. Subjek penelitian adalah 10 ekor tikus galur *Sprague dawley* jantan, yang diinduksi streptozotocin (STZ) dosis 35 mg/kgBB. Subjek dibagi dua kelompok yaitu, kelompok STZ dan kelompok STZ dengan latihan fisik. Latihan fisik diberikan selama 9 minggu menggunakan treadmill, frekuensi 5x/minggu, intensitas moderat, kemiringan 0°, kecepatan dan durasi ditingkatkan secara bertahap.

**Hasil.** Latihan fisik teratur dan terukur berpengaruh terhadap prosentase penurunan gula darah puasa ( $p=0,048$ ) dan ekspresi RAGE di glomerulus ( $p=0,003$ ).

**Simpulan.** Latihan fisik teratur dan terukur dapat menurunkan kadar GDP serta mampu mengurangi ekspresi RAGE di glomerulus.

**Kata Kunci** : Diabetes mellitus, ekspresi RAGE, glomerulus, gula darah puasa, latihan fisik.

## ABSTRACT

**Introduction.** The main cause of complications in diabetes mellitus is a condition of oxidative stress due to increased reactive oxygen species (ROS). The increase in ROS can be triggered by the increase in advanced glycation end-products (AGE), which binds to its receptor (RAGE). The objective of this study was to evaluate the benefits of physical exercise in preventing complications of the kidneys caused by hyperglycemia.

**Methods.** This study was a pure experimental research with post-test only group design. Subjects were 10 male Sprague Dawley rats induced with 35 mg/kg dose of streptozotocin (STZ). The subjects were divided into two groups, i.e. the STZ group and STZ group with physical exercise. Physical exercise was given in 9 weeks using a treadmill, in 5 times/week frequency, moderate intensity, 0 degree of tilt, gradually increased speed and duration.

**Results.** Regular and measurable physical exercise can decrease the blood glucose level (0,048) and reduce the RAGE expression in glomerulus.

**Conclusion.** Regular and measurable physical exercise can decrease the blood glucose level and reduce the RAGE expression in glomerulus.

**Keywords** : Diabetes mellitus, fasting blood glucose, glomerulus, physical exercise, RAGE expression.

## PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) adalah kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia. Diabetes mellitus sangat erat kaitannya dengan komplikasi.<sup>1</sup> Komplikasi tersebut antara lain berupa mikrovaskuler seperti retinopati, nefropati dan neuropati maupun makrovaskuler meliputi penyakit jantung iskemik, penyakit jantung perifer dan penyakit serebrovaskuler.<sup>2,3</sup> Penyebab utama komplikasi pada DM adalah adanya kondisi stres oksidatif.<sup>4,5</sup>

Stres oksidatif terbentuk karena ketidakseimbangan antara radikal bebas dan mekanisme pertahanan tubuh, yang disebabkan karena peningkatan produksi radikal bebas, penurunan aktivitas antioksidan atau keduanya.<sup>6,7,8</sup> Sumber utama terjadinya stres oksidatif pada DM adalah auto-oksidasi glukosa, produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebih di mitokondria, glikasi nonenzimatik, aktivasi jalur poliol sorbitol,<sup>9</sup> pembentukan lipid peroksida serta penurunan enzim-enzim antioksidan seperti glutathion, superoksid dismutase dan asam askorbat.<sup>6,7</sup>

Glikasi nonenzimatik antara glukosa dan asam amino akan membentuk akumulasi *advanced glycation end products* (AGE). Adanya peningkatan 1% AGE akan memberi peluang terjadinya komplikasi mikrovaskuler sebesar 37%<sup>2</sup>. *Advanced glycation end products* akan menghasilkan berbagai efek merugikan melalui berbagai mekanisme. Pertama, pembentukan AGE yang terjadi pada matriks ekstraseluler akan menyebabkan terjadinya ekspansi matriks dan selanjutnya akan menyempitkan lumen. Kedua, pembentukan AGE yang terjadi pada intraseluler akan menginduksi stres oksidatif dan meningkatkan produksi anion superoksida pada mitokondria. Ketiga, AGE yang berinteraksi dengan reseptornya (RAGE) akan mengaktifkan kaskade proinflamasi, protrombosis<sup>2</sup> dan profibrosis.<sup>10</sup>

Ginjal merupakan organ utama pembuangan akhir produk AGE. Jumlah AGE yang meningkat dalam plasma dapat menginduksi perubahan patologik glomerulus tikus diabetes, yaitu ekspansi matriks mesangial, fibrosis dan peradangan.<sup>11</sup> Ekspansi matriks mesangial menyebabkan penurunan kapiler glomerular sehingga mengakibatkan penurunan laju filtrasi glomerulus.<sup>12</sup> Peningkatan matriks ekstraseluler juga dapat menyebabkan penebalan dinding pada glomerulus dan selanjutnya akan menginduksi terjadinya glomerulosklerosis.<sup>13</sup> *Advanced glycation end products* yang berikatan dengan reseptornya akan menyebabkan transformasi sel tubular menjadi miofibroblas, sehingga tubulus akan menjadi hipertrofi.<sup>14</sup> Interaksi antara RAGE dengan glikasi albumin akan mengurangi ekspresi nephrin, sehingga mengganggu fungsi normal



podosit pada daerah glomerular yang selanjutnya menyebabkan terjadinya hiperpermiabilitas dan proteinuria.<sup>13</sup> Secara umum, akumulasi AGE akan mempercepat terjadinya nefropati diabetik.<sup>3</sup>

Latihan fisik teratur dan terukur merupakan terapi modalitas bagi penatalaksanaan DM.<sup>15,16</sup> Latihan fisik yang teratur dan terukur dapat meningkatkan homeostasis glukosa, mengurangi rasio glukosa/insulin, dan meningkatkan sensitivitas insulin.<sup>17</sup> Otot yang aktif bergerak tidak memerlukan insulin untuk memasukan glukosa kedalam sel, selain itu latihan fisik akan menyebabkan ambilan glukosa meningkat 7-20 kali lipat.<sup>18</sup> Jumlah permintaan energi yang lebih tinggi tersebut akan mengurangi reaksi glikasi yang terjadi, sehingga dapat menurunkan jumlah AGE di plasma maupun jaringan.<sup>11</sup> Latihan fisik yang dilakukan secara teratur dan terukur dengan memperhatikan frekuensi, intensitas, durasi dan tipe latihan fisik tersebut dapat meningkatkan kapasitas dan aktivitas antioksidan tubuh seperti SOD dan glutathion peroksidase (GPx),<sup>19</sup> yang berakibat pada penurunan kadar lipid peroksidase.<sup>20</sup> Selain itu, dengan adanya penurunan jumlah AGE maka suplai radikal bebas pada tubuh akan berkurang.<sup>15</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi manfaat latihan fisik dalam mencegah komplikasi pada ginjal akibat hiperglikemia dengan mengkaji kadar gula darah dan ekspresi RAGE di glomerulus. Harapannya, penelitian ini dapat membuktikan secara ilmiah tentang efek latihan fisik yang teratur dapat mencegah komplikasi akibat hiperglikemia kronis.

## **METODE**

Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan rancangan *post-test control group design*. Subjek penelitian ini adalah tikus putih jantan, galur *Sprague Dawley* (SD), usia 11-12 minggu dengan berat badan 200-250 gram diinduksi streptozotocin dosis rendah yaitu 35 mg/kg BB serta memiliki glukosa plasma >200 mg/dl atau glukosa puasa >140 mg/dl. Subjek dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok tikus yang diinduksi STZ tanpa diberikan latihan fisik

teratur dan terukur dan kelompok tikus yang diinduksi STZ dengan diberikan latihan fisik teratur dan terukur.

Program latihan fisik terukur dan teratur dilakukan 5 hari/minggu selama 9 minggu dengan treadmill. Perlakuan latihan fisik tersebut diawali adaptasi treadmill selama satu minggu dengan kecepatan 5 m/menit selama 10 menit, dilanjutkan 8 minggu dengan kecepatan bertingkat mulai 5 menit hingga 20 m/menit selama 1 jam dengan derajat kemiringan 0°. <sup>21</sup> Minggu pertama adaptasi treadmill, tikus berlari dengan kecepatan 5 m/menit selama 10 menit. Fase latihan rutin dimulai pada minggu kedua dengan kecepatan 5 m/menit selama 30 menit, minggu ketiga kecepatan 11 m/menit selama 30 menit, minggu keempat 14 m/menit selama 45 menit. Minggu keenam hingga kesembilan, kecepatan treadmill 20 m/menit selama 1 jam. Kadar gula darah puasa diukur sebanyak empat kali yaitu hari ke-3 (GDP<sub>1</sub>), hari ke-17 (GDP<sub>2</sub>), hari ke-47 (GDP<sub>3</sub>) dan hari ke-87 (GDP<sub>4</sub>) setelah induksi STZ. Ekspresi RAGE di glomerulus diukur dengan pembuatan sediaan histologis dengan pewarnaan imunohistokimia.

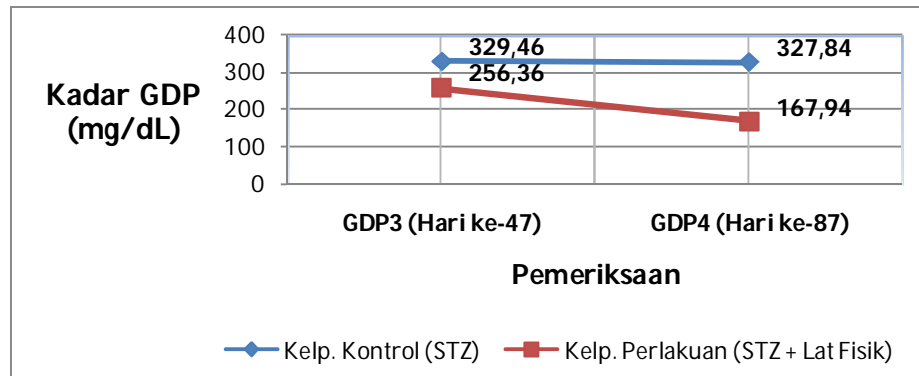
## HASIL

Penelitian ini sebelumnya telah mendapat persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran UGM.

**Tabel 1. Rerata kadar gula darah puasa sebelum randomisasi**

<b>Gula Darah Puasa</b>	<b>Mean±SEM (mg/dL)</b>
Hari ketiga setelah induksi STZ (GDP <sub>1</sub> )	336,77±37,30
Hari ketujuh belas setelah induksi STZ (GDP <sub>2</sub> )	307,70±35,66

**Gambar 1. Rerata Kadar Gula Darah Puasa Setelah Randomisasi**



**Tabel 2. Uji beda prosentase GDP<sub>4</sub> antara kelompok kontrol (STZ) dan kelompok perlakuan (STZ+latihan fisik)**

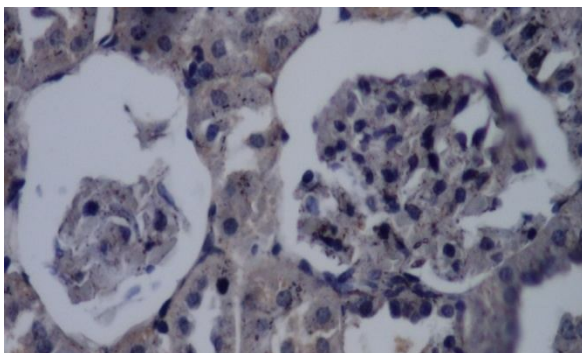
Kelompok	Mean±SEM	P value	Keterangan
Kelompok Kontrol	327,84±70,35	0,048	Ada beda bermakna
Kelompok Perlakuan	167,94±31,44		

**Tabel 3. Uji beda *independent t-test* RAGE di sel-sel glomerulus**

Kelompok	Mean±SEM	P value	Keterangan
Kelompok Kontrol	95,82±0,76	0,003	Ada beda bermakna
Kelompok Perlakuan	79,12±3,78		

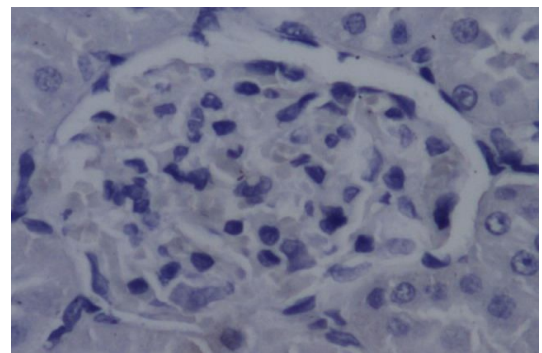
**Gambar 2.**

Gambaran mikroskopis reseptor AGE di glomerulus ginjal tikus kelompok kontrol (STZ) dengan pembesaran 400X



**Gambar 3.**

Gambaran mikroskopis reseptor AGE di glomerulus ginjal tikus kelompok perlakuan (STZ+latihan fisik) dengan pembesaran 400X



## PEMBAHASAN

Diabetes mellitus merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia, sebagai akibat dari penurunan sekresi insulin, aksi insulin atau keduanya.<sup>16,22</sup> Diabetes mellitus dapat dipelajari lebih lanjut melalui hewan model DM. Salah satu cara untuk membuat hewan model DM adalah dengan induksi STZ.<sup>23-28</sup> Streptozotocin yang diinduksikan akan mengakibatkan kerusakan dan kematian pada sel islet  $\beta$  pankreas melalui fragmentasi DNA.<sup>26</sup> Terdapat tiga mekanisme utama yang berhubungan dengan kematian sel  $\beta$  yaitu, (1) metilasi DNA akibat pembentukan ion carbonium ( $\text{CH}_3^+$ ) yang dihasilkan saat aktivasi dari enzim *poly ADP-ribose synthetase*, dan merupakan bagian dari mekanisme perbaikan sel karena adanya penurunan  $\text{NAD}^+$ ; (2) pembentukan radikal bebas seperti hidrogen peroksida; dan (3) produksi nitric oxide.<sup>27</sup> Toksisitas STZ pada sel  $\beta$  terjadi pada 2-4 hari setelah induksi.<sup>29</sup> Subyek pada penelitian ini adalah tikus jantan *Sprague dawley* yang diinduksikan STZ secara intraperitoneal dengan dosis 35 mg/kgBB.

Rerata kadar GDP pada kelompok tikus yang diinduksi STZ, baik kelompok kontrol ( $327,84 \pm 70,35$  mg/dL) maupun kelompok perlakuan ( $167,94 \pm 31,44$  mg/dL) sampai dengan hari ke-87 masih  $\geq 140$  mg/dL. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa, induksi STZ dengan dosis tunggal 35 mg/kgBB mampu menciptakan kondisi diabetes pada tikus sampai dengan 12 minggu. Hal ini bertentangan dengan penelitian yang menyatakan bahwa induksi STZ dengan dosis dibawah 40 beberapa mg/kgBB kurang efektif untuk membuat hewan model DM.<sup>23,26</sup> Hasil penelitian ini justru menguatkan beberapa penelitian yang menyebutkan bahwa pada tikus yang diinduksi STZ dengan dosis rendah yaitu 35 mg/kgBB yang disertai pemberian makanan tinggi lemak, dapat menyebabkan kondisi yang menyerupai DM tipe-2, yaitu diabetes yang memiliki kondisi hiperglikemia namun tidak disertai peningkatan kadar gula darah yang drastis.<sup>24,30</sup>

Kadar glukosa akan mencapai puncak tertinggi pada hari ketiga setelah induksi STZ.<sup>31</sup> Hasil penelitian ini juga menunjukkan hal yang serupa yaitu, rata-rata kadar GDP<sub>1</sub> (hari ketiga *post* induksi STZ) mencapai titik tertingginya (336,77±37,30 mg/dL) dibandingkan rerata kadar GDP<sub>2</sub> yang diambil pada hari ke-17 setelah induksi STZ (307,70±35,66). Rerata kadar GDP<sub>1</sub> pada tikus yang diinduksi STZ termasuk dalam rentang hiperglikemia sedang (250-450 mg/dL). Sebuah penelitian menyebutkan bahwa pada tikus, hiperglikemia sedang (250-450 mg/dL) adalah kondisi hiperglikemia yang menyerupai DM tipe-2.<sup>27</sup>

Latihan fisik teratur dan terukur merupakan salah satu alternatif untuk memperbaiki kondisi hiperglikemia. Intensitas latihan fisik yang direkomendasikan untuk penderita diabetes adalah intensitas sedang dengan rentang VO<sub>2</sub> max 60-70%, durasi 30-40 menit latihan inti (total 150 menit/minggu), dan frekuensinya 3-4 kali per minggu.<sup>16,32</sup>

Hasil penelitian pada kelompok tikus kontrol, GDP<sub>4</sub> (327,84±70,35 mg/dL) mengalami kenaikan dibandingkan GDP<sub>3</sub> (329,46±76,99 mg/dL), meskipun selisih reratanya hanya sedikit yaitu 1,62 mg/dL. Kenaikan GDP yang hanya sedikit ini disebabkan karena pankreas berusaha untuk mengkompensasi hiperglikemia yang terjadi.<sup>33</sup> Pemberian STZ dosis rendah akan terjadi degenerasi reversibel pada sel  $\beta$  pankreas.<sup>29</sup>

Hasil pemeriksaan pada kelompok perlakuan, rerata GDP<sub>4</sub> (167,94 mg/dL) mengalami penurunan dibandingkan rerata GDP<sub>3</sub> (256,36 mg/dL). Hasil penelitian ini sesuai dengan teori bahwa latihan fisik teratur dan terukur mempunyai efek melindungi dan mencegah sel  $\beta$  pankreas dari toksisitas yang diakibatkan oleh induksi STZ, yaitu dengan mencegah penurunan *superoxide dismutase* (SOD), *glutathion peroxidase* (GSHPx) dan *catalase* (CAT).<sup>34</sup> Selisih rerata GDP (GDP<sub>3</sub>-GDP<sub>4</sub>) pada kelompok perlakuan adalah 88,42 mg/dL, jauh lebih banyak jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (-1,62 mg/dL) yang

justru mengalami kenaikan. Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa latihan fisik teratur dan terukur 54,58 kali lebih efektif menurunkan GDP.

Proses perbaikan kontrol glukosa melalui latihan fisik teratur dan terukur dapat terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu (1) stimulasi transport glukosa ke otot; (2) peningkatan aksi insulin pada sel-sel organ yang terlibat dalam latihan fisik dan; (3) regulasi positif yang dirangsang oleh insulin sebagai efek dari latihan fisik yang teratur.<sup>29</sup>

Latihan fisik telah diindikasikan sebagai kegiatan yang menyerupai insulin. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan kapasitas otot untuk menangkap glukosa plasma karena penurunan cadangan lemak intramuscular.<sup>29</sup> Peningkatan kapasitas otot untuk mengoksidasi lemak sebagai respon latihan fisik aerobik merupakan mekanisme utama yang meningkatkan sensitivitas insulin dalam otot.<sup>35</sup> Latihan fisik teratur dan terukur dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di otot skelet, memperbaiki NO sehingga dapat memediasi aliran darah pada otot skelet, mengurangi hormon yang menstimulasi pembentukan glukosa hepatic serta menormalkan kadar lemak darah. Hasil tersebut juga menguatkan teori yang menyebutkan bahwa ambilan glukosa dari darah oleh otot rangka yang berkontraksi dapat meningkat sebesar 30-40 kali lipat.<sup>19</sup> Meningkatnya ambilan glukosa terjadi dikarenakan meningkatnya transport aktif glukosa melalui membran sel otot dan aktifnya enzim-enzim glikolitik dan enzim-enzim oksidatif yang berperan untuk proses pemecahan glukosa.

Hasil uji statistik yang diperoleh dengan menggunakan uji *independent t-test* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna rerata GDP setelah perlakuan pada kedua kelompok ( $p=0,048$ ;  $p\leq 0,05$ ). Hal ini disebabkan rerata perbedaan antara kedua kelompok yang besar, yaitu 159,90. Nilai GDP<sub>4</sub> pada kelompok perlakuan pun hampir mendekati batas normal yaitu 167,94 mg/dL; selisih 27,94 mg/dL sedangkan nilai GDP<sub>4</sub> pada kelompok kontrol masih menunjukkan angka yang tinggi dan menjauhi GDP normal (327,84 mg/dL), meskipun GDP pada kelompok kontrol tersebut masih dalam rentang *mild hiperglikemia*.

Hasil yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kedua kelompok diduga disebabkan nilai GDP pada kelompok kontrol yang tidak terlalu melonjak naik sementara kelompok perlakuan mengalami penurunan yang cukup signifikan. Kadar GDP pada kelompok kontrol tidak melonjak naik dikarenakan adanya mekanisme pankreas dalam mengkompensasi hiperglikemia akibat degenerasi reversibel pada sel  $\beta$  pankreas pada induksi STZ dosis rendah.<sup>29,33</sup> Penurunan rerata GDP pada kelompok perlakuan setelah akhir perlakuan cukup tinggi yaitu 167,94 mg/dL, hal ini disebabkan karena perlakuan latihan fisik teratur dan terukur akan menginduksi permintaan energi lebih tinggi<sup>11</sup> sehingga ambilan glukosa meningkat 30-40 kali lipat.<sup>19</sup> Peningkatan permintaan energi di otot skelet disebabkan ambilan glukosa melalui glukosa transporter terutama GLUT 4.<sup>36</sup> Latihan fisik teratur dan terukur juga dapat melindungi kerusakan sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi STZ sehingga dapat mencegah penurunan antoksidan endogen, seperti SOD, GSHPx dan katalase.<sup>34</sup>

Kondisi hiperglikemia pada DM akan menyebabkan komplikasi, baik berupa mikrovaskuler maupun makrovaskuler.<sup>2,5</sup> Komplikasi yang terjadi pada DM disebabkan karena adanya peningkatan ROS. Ada empat jalur abnormalitas hiperglikemia yang memediasi peningkatan ROS yaitu: (1) jalur pembentukan *advanced glycation end-products*; (2) jalur poliol sorbitol; (3) jalur protein kinase C (PKC) dan; (4) jalur heksosamin.<sup>3,37</sup>

*Advanced glycation end-products* adalah kompleks perubahan biokimiawi<sup>38</sup> yang dibentuk melalui reaksi glikasi non enzimatis antara glukosa dan asam amino.<sup>2,39</sup> *Advanced glycation end-products* yang berikatan dengan reseptornya (RAGE) akan mengaktifkan kaskade proinflamasi,<sup>2,38,40</sup> protrombosis, profibrosis<sup>41,42</sup> dan prosklerosis.<sup>43</sup> Interaksi antara AGE-RAGE akan meningkatkan produksi ROS intraseluler melalui rangkaian transport elektron, *NADPH oxidase*, *xanthine oxidase* dan metabolisme asam arakidonat.<sup>43</sup> Reseptor AGE merupakan reseptor transmembran yang diekspresikan di permukaan sel

endotel<sup>43</sup> terutama pada tubulus proksimal<sup>44</sup> dan glomerulus.<sup>45,46</sup> Ikatan AGE-RAGE merupakan kontributor utama komplikasi DM pada ginjal.<sup>38,43,47</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna ekspresi RAGE pada glomerulus antara kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan ( $p=0,003$ ;  $p\leq 0,05$ ). Kelompok tikus kontrol mengekspresikan RAGE lebih banyak (95,82%) dibandingkan tikus perlakuan (79,12%), secara kualitatif hal tersebut dapat dilihat pada gambar 3. Warna coklat pada sel-sel di glomerulus tampak lebih gelap, hal ini menunjukkan ekspresi RAGE pada tikus kontrol lebih banyak jika dibandingkan dengan tikus perlakuan (gambar 2). Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang menyatakan bahwa, permintaan energi yang tinggi pada otot yang aktif bergerak saat latihan fisik teratur dan terukur, mampu menurunkan jumlah AGE di plasma maupun jaringan dengan cara mengurangi produk glikasi reaktif seperti *glucose-6-phosphate*, *fructose-1,6-diphosphate*, *glyceraldehydes-3-phosphate* maupun *fructose-3-phosphate* pada jalur poliol.<sup>11</sup>

Gambaran mikroskopis glomerulus tikus kontrol (gambar 2) menunjukkan penebalan ruang kapsula glomerulus jika dibandingkan dengan tikus perlakuan (gambar 3), hal ini menunjukkan adanya glomerulosklerosis pada tikus kontrol. Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang menyatakan bahwa ikatan antara AGE-RAGE akan menyebabkan peningkatan membran basal (kolagen tipe IV),<sup>13</sup> produksi berlebih dari matriks protein, merubah ekspresi matriks metalloproteinase dan proteinase inhibitor, menginduksi stres oksidatif pada mesangial serta mengaktifasi protein kinase C.<sup>45</sup> Selanjutnya, kondisi tersebut akan meningkatkan produksi sitokin proinflamasi (TGF- $\beta$ ) dan akan mengakibatkan glomerulosklerosis, yang ditandai dengan penebalan dinding kapiler glomerulus dan arteri renalis.<sup>43,46</sup> Pada keadaan yang lebih lanjut, ekspresi berlebih dari RAGE akan meningkatkan albuminuria, kreatinin serum dan hipertrofi renal.<sup>45</sup> Tikus yang diinduksi STZ dosis rendah terbukti mengalami glomerulosklerosis setelah 12 minggu dengan glukosa darah  $\geq 250$  mg/dL.<sup>13</sup> Latihan fisik teratur dan terukur terbukti dapat menurunkan ekspansi matriks



mesangial glomerulus dan fibrosis tubulointersisial dengan mengurangi jumlah AGE, *N(epsilon)-carboxy-methyllysine* dan produk-produk *advanced oxidation protein*. Oleh karena itu, latihan fisik merupakan pendekatan nonfarmakologi yang mudah dan efektif untuk memperbaiki gejala awal diabetic nefropati.<sup>43</sup>

## KESIMPULAN

Latihan fisik teratur dan teratur terbukti mampu menurunkan kadar gula darah dan ekspresi RAGE di glomerulus.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengukuran ketebalan pada ruang kapsula glomerulus tikus DM.

## DAFTAR PUSTAKA

1. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) 35. (2000). Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 321:405-412.
2. Hudson, I. Barry, Hofmann, A. Marion, Bucciarelli, L., Wendt, T., Moser, B., Lu, Y., Qu, W., Stern, M. David, D'Agati, V., Yan, S.D., Yan, S.F., Grant, J. Peter, Schmidt, A.M. (2002). Glycation and diabetes: the RAGE connection. *Current Science*. 83 (12):1515-1521.
3. Setiawan, B., Suhartono, E. (2005). Stress oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes mellitus. *Maj Kedokt Ind*. 55(2):86-91.
4. Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 82:47-95.
5. Wiyono, Paulus. (2003). Peranan hiperglikemia terhadap terjadinya komplikasi kronik diabetes mellitus. *B I Ked*. 35(1):55-60.
6. Moussa, S.A. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Romanian J Biophys*. (2008).18(3):225-236.
7. Samuel, V.T. (2011). Prooxidant and antioxidant status in type 2 diabetes with relation to its duration. *IJPBS*. 2(2):B-386—B-391.

8. Kumawat, M., Singh, I., Singh, N., Singh, V., Kharb, S. (2012). Lipid peroxidation and lipid profile in type II diabetes mellitus. *Webmed Central*. WMC003147:1-10.
9. Lemos, E.T., Oliviera, J., Pinheiro, J.P., Reis, F. (2012). Review article, regular physical exercise as a strategy to improve antioxidant and anti-inflammatory status : benefits in type 2 diabetes mellitus. *Exp Diabetes Res*. 1-15.
10. Bohlender, M. J., Franke, S., Stein, G., Wolf, G. (2005). Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 289:F645-F659.
11. Boor, P., Celec, P., Behuliak, M., Grancic, P., Kebis, A., Kukan, M., Pronayova, N., Liptaj, T., Ostendorf, T., Sabekova, K. (2009). Regular moderate exercise reduces advanced glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese Zucker rats. *J Metabol*. 58:1669-1677.
12. Ghosh, S., Khazai, M., Moein-Afshari, F., Ang, L.S., Granville, D.J., Verchere, C.B., Dunn, R., McCue, P., Mizisin, A., Sharma, K., Laher, I. (2009). Moderate exercise attenuates caspase-3 activity, oxidative stress and inhibits diabetic renal disease in db/db mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 296:F700-F708.
13. Wendt, T., Tanji, N., Guo, J., Hudson, B.I., Bierhaus, A., Ramasamy, R., Arnold, B., Nawroth, P.P., Yan, S.F., D'agati, V., Schmidt, A.M. (2003). Glucose, glycation and RAGE: implications for amplification of cellular dysfunction in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 14:1383-1395.
14. Uribarri, Jaime & Tuttle, R. Katherine. (2006). Advanced glycation end products and nephrotoxicity of high-protein diets. *Clin J Am Soc Nephrol*. 1:1293-1299.
15. Atalay, Mustafa & Laaksonen, E. David. (2002). Review article: Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J Sport Sci Med*. 1:1-14.
16. ADA. Classification and diagnosis of diabetes. (2011). *Diabetes care*. 34(1):S12-S13.
17. Angelis, De K.L.D., Ago, Dall P., Oliveira, A.R., Peixoto, L.R.A., Lacchini, S., Gandoski, G., Fernandes, T.G., Irigoyen, M.C. (2000). Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*. 33:635-641.
18. Indriyani, Puji., Supriyatno, Heru., Santoso, Agus. (2007). Pengaruh latihan fisik; senam aerobik terhadap penurunan kadar gula darah pada penderita DM tipe 2 di wilayah Puskesmas Bukateja Purbalingga. *Media Ners*. 1(2):49-99.

19. Giriwijoyo, S.H.Y.S. (2008). Ilmu faal olahraga, fungsi tubuh manusia pada olahraga untuk kesehatan dan prestasi. Edisi 7. UPI. Bandung.
20. Harjanto. (2006). Antioxidant and physical exercise. *Yarsi*. 14(1):070-077.
21. Souza, S.B.C., Flues, K., Paulini, J., Mostarda, C., Rodrigues, B., Souza, L.E., Irigoyen M-C., Angelis KD. (2007). Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. *Am Heart J*. 50:786-791.
22. Szkudelski, T. (2001) The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas, minireview. *Physiol Res*. 50:536-546.
23. Srinivasan, K., Ramarao, P. (2007). Animals model in type 2 diabetes research : an overview. *Indian J Med Res*. 125:451-472.
24. Ozcelik, D., Tuncdemir, M., Ozturk, M., Uzun, H. (2011). Evaluation of trace elements and oxidative stress levels in the liver and kidney of streptozotocin-induced experimental diabetic rat model. *Gen Physiol Biophys*. 30:356-363.
25. Ragbetli, C., Ceylan, E. (2010). Effect of streptozotocin on biochemical parameters in rats. *Asian J Chem*. 22(3):2375-2378.
26. Sobrevilla, V.J., Villa, B.V.D., Aguilar, C.N., Ramos, R.R., Avila, V.E., Sepulveda, S.E., Aguilar, A.F. 2011. Effect of varying dose and administration of streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice. *Proc West Pharmacol Soc*. 54:5-9.
27. Amid, K.A., Awad, E.M, Nagy, M.A. (2011). Effects of panax quinquefolium on streptozotocin-induced diabetic rats: role of C-peptide, nitric oxide and oxidative stress. *Int J Clin Exp Med*. 4 (2):136-147.
28. Akbarzadeh, A., Norouzi, D., Mehrabi, M.R., Jamshidi, S.H., Farhangi, A., Verdi, A.A. (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem*. 22 (2):60-64.
29. Zhang, M., Lv, X-Y., Li, J., Xu, Z-G., Chen, L. (2008). The characterization on high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res*. 1-9.
30. Abeelee, M.A., Ismail, Z.B., Alzaben, K.R., Abu-Halaweh, S.A., Al-Essa, M.K., Abuabeele, J., Alsmady, M.M. (2009). Induction of diabetes mellitus in rats using intraperitoneal streptozotocin x: a comparison between 2 strains in rats. *Eur J Sci Res*. 32 (3):398-402.
31. Sigal, R.J., Kenny, G.P., Wasserman, D.H., Sceppe, C.C., White, R.D. (2006). Physical activity/exercise and type 2 diabetes, a consensus statement from the american diabetes association. *ADA*. 1-6.

32. Alsahli, M., Gerich, J.E. (2010). Abnormalities of insulin secretion and  $\beta$ -cell defects in type-2 diabetes, ch 10. 4th ed. Wiley-Blackwell. Oxford. UK.
33. Coskun, O., Ocakci, A., Bayraktaroglu, T., Kanter, M. (2004). Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and B cell damage in rat pancreas. *Tohoku J Exp Med.* 203:145-154.
34. Roberts, C.K., Barnard, R.J., Scheck, S.H., Balon, T.W. (1997). Exercise—stimulated glucose transport in skeletal muscle is nitric oxide dependent. *Am J Physiol.* 272:E220-E225.
35. Goodwin, M.L. (2010). Review article, blood glucose regulation during prolonged, submaximal, continuous exercise : a guide for clinicians. *J Diabetes Sci Technol.* 4(3):694-705.
36. Oldfield, M.D., Bach, L.A., Forbes, J.M., Paterson, N., McRobert, A., Thallas, Atkins, Osicka, Jerums, Cooper. (2001). Advanced glycation end products cause epithelial-myofibroblast transdifferentiation via the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *J Clin Invest.* 108:1853-63.
37. Sourris, K.C., Harcourt, B.E., Penfold, S.A., Yap, F.Y.T., Morley, A.L., Morgan, P.E., Davis, M.J., Baker, S.T., Jerums, G., Forbes, J.M. (2010). Modulation of the cellular expression of circulating advanced glycation end-product receptors in type 2 diabetic nephropathy. *Exp Diabetes Res.* 1-9.
38. Makita, Z., Radoff, S., Rayfield, J.E., Yang, Z., Skolnik, E., Delaney, V., Friedman, E.A., Cerami, A., Vlassara, H. (1991). Advanced glycation end products in patients with diabetic nephropathy. *Nejm Org.* 19:836-842.
39. Kotani, K., Caccavello, R., Sakane, N., Yamada, T., Taniguchi, N., Gugliucci, A. (2011). Influence of physical activity intervention on circulating soluble for elderly subject. *J Clin Med Res.* 3(5):252-257.
40. Bohlender, M. J., Franke, S., Stein, G., Wolf, G. (2005). Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 289:F645-F659.
41. Beckman, J.A., Golgine, A.B., Gordon, M.B. (2001). Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in human. *Circulation.* 103:1618-1623.
42. Radoi, V., Lixandru, D., Mahora, M., Virgolici, B. (2012). Advanced glycation end products in diabetes mellitus : mechanism of action and focused treatment. *Rom Acad. Series B* (1):9-19.

43. Stern, D., Yan, S.D., Yan, S.F., Schmidt, A.M. (2002). Receptor for advanced glycation end products: receptor magnifying cell stress in diverse pathologic setting. *Adv Drug Deliv Rev.* 54(12): 1615-1625.
44. Peppas, M., Vlassara, H. (2005). Advanced glycation end products and diabetic complications: a general overview. *Hormones.* 4(1):28-37.
45. Ramasamy, R., Susan J., Vannucci, Shirley, Kevan Herold, Shi Fang Yan, and Ann Marie Schmidt. (2005). Review: Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. *Glycobiology.* 15 (7):16R–28R.
46. Ueno, Y., Kizaki, M., Nakagiri, R., Kamiya, T., Sumi, H., Osawa, T. (2002). Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr.* 132:897-900.